

Dissertation

**Totalsynthese von Urukthapelstatin A
und von Sirtuin-Modulatoren**

zur Erlangung des akademischen Grades *Doctor rerum naturalium*

(Dr. rer. nat.)

Im Fach Chemie

an der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

eingereicht von

Sebastian Schwenk

geboren am 27. Februar 1985 in Hadamar

Gutachter:

1. Prof. Dr. Hans-Dieter Arndt (FSU Jena)
2. Prof. Dr. Rainer Beckert (FSU Jena)

Tag der Verteidigung: 10. Mai 2017

Inhaltsverzeichnis

1	Allgemeine Einleitung	1
1.1	Naturstoffe	1
1.2	Totalsynthese als Werkzeug	1
1.3	Totalsynthese in dieser Arbeit	6
2	Thiazol/Oxazol modifizierte Micrococcine	8
2.1	Cyanobaktine	8
2.1.1	Biosynthese	11
2.1.2	Biologische Aktivität	12
2.2	Zyklische 2,4'-verknüpfte Oligoazole	13
2.2.1	Biologische Wirkung und potentielle Wirkorte	14
2.2.2	Biosynthese	17
2.2.3	Synthesen	20
2.3	Problemanalyse	27
3	Zielsetzung der Arbeit	32
4	Stereoselektive Totalsynthese von Urukthapelstatin A	33
4.1	Retrosynthetische Planung	33
4.2	Darstellung der Azolbausteine	35
4.3	Festphasensynthese und Aufbau des Makrozyklus	43
4.3.1	Untersuchungen zur Aza-Wittig-Reaktion	47

4.4	Alternative retrosynthetische Planung	49
4.5	Untersuchungen zur Darstellung des Bioxazols 122	50
4.6	Aufbau des Makrozyklus	52
4.7	Untersuchungen zur Selektivität der Eliminierung	64
4.8	Stereoselektive Synthesen zu Urukthapelstatin A	68
4.9	Fazit.....	70
5	Selektive Modulation von Sirtuinen	72
5.1	Sirtuine	72
5.1.1	Isoformen.....	72
5.1.2	Katalytische Aktivität.....	75
5.2	EX-527	78
5.3	Zielsetzung	80
5.4	Darstellung verschiedener Tetrahydrocarbazole	82
5.4.1	Stabilität der Tetrahydrocarbazole	91
5.5	Synthese einiger Carbazole	92
5.6	Zusammenstellung der biologischen Daten.....	92
5.7	Fazit und Ausblick	96
6	Zusammenfassung	97
6.1	Totalsynthese von Urukthapelstatin A	97
6.2	Tetrahydrocarbazole als Sirtuin-Modulatoren.....	99
7	Ausblick.....	101
7.1	Totalsynthese von Urukthapelstatin A	101
7.2	Tetrahydrocarbazole als Sirtuin-Modulatoren.....	102
8	Experimenteller Teil.....	105
8.1	Methoden	105
8.1.1	Geräte und Verfahren	105

8.1.2	Chromatographie	106
8.1.3	Reagenzien und Lösungsmittel	107
8.1.4	Pufferlösungen	108
8.1.5	ZMAL-Assay	108
8.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften	109
8.3	Darstellung von Urukthapelstatin A	112
8.4	Darstellung verschiedener Tetrahydrocarbazole	161
9	Literaturverzeichnis.....	181
10	Abkürzungsverzeichnis	198
11	Spektrenanhang.....	203
11.1	Totalsynthese Urukthapelstatin A.....	203
11.2	Sirtuin Modulatoren	251

1 Allgemeine Einleitung

1.1 Naturstoffe

Extrakte aus natürlichen Quellen – hauptsächlich aus Pflanzen und Mikroorganismen – zeigen verschiedenste Wirkungen. Die für diese Aktivität verantwortlichen Naturstoffe bzw. Naturstoffgemische werden u. A. von ihren Produzenten gebildet, um sich einen Wettbewerbsvorteil gegenüber anderen Arten zu verschaffen. Naturstoffe werden dabei klassisch in primäre und sekundäre Metaboliten unterteilt.^[1] Primäre Metaboliten sind direkt an den Hauptstoffwechselwegen beteiligt, werden für den Aufbau der biologischen Makromoleküle sowie das Zellwachstum benötigt und sind daher für den Organismus essentiell. Demgegenüber sind Sekundärmetaboliten für das Überleben der Produzenten nicht von unmittelbarer Bedeutung.^[2] Bisher bekannte Funktionen und Wirkungen dieser Naturstoffe reichen vom Informationsaustausch zwischen Artgenossen als Pheromone, über die Aufnahme und den Transport von Nährstoffen durch Siderophore, bis hin zur Bekämpfung konkurrierender Organismen mittels Toxinen.^[3]

Sekundärmetaboliten weisen häufig eine für die jeweilige Funktion optimierte Struktur auf, die sich im Laufe der Evolution herausgebildet hat.^[4] Daher dienen diese Naturstoffe oft als Leitstruktur bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe.^[4-6] Auch im Bereich der Biotechnologie, Molekularbiologie und der Zell- bzw. Systembiologie werden diese Metaboliten eingesetzt, um z. B. neue biologische Zielmoleküle zu erforschen.^[4,7] In der organischen Chemie, insbesondere im Bereich der Totalsynthese, haben Naturstoffe aufgrund der hohen Komplexität und der strukturellen Diversität große Bedeutung als synthetisch anspruchsvolle Zielstrukturen erlangt.^[8] Neben der Entwicklung neuer Methoden und der selektiven Modifikation funktioneller Gruppen, die auch für semisynthetische Ansätze essentiell sind, stellt die Erforschung der präparativen Darstellung von Naturstoffen eine synergistische Plattform dar, von der die großen Wissenschaften der Biologie, Medizin und der Chemie gleichermaßen profitieren.

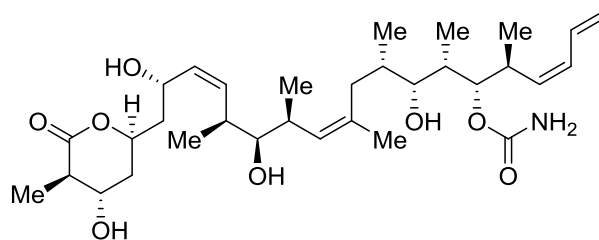
Im Folgenden Kapitel soll ein kurzer Einblick in die chemische Totalsynthese von Naturstoffen, als Werkzeug für die oben genannten Bereiche gegeben werden.

1.2 Totalsynthese als Werkzeug

Von den 1355 zwischen 1981 und 2010 zugelassenen neuen Wirkstoffen basierten 40% aller Substanzen sowie 64% der entwickelten Antikrebsmedikamente und 75% der Antibio-

otika entweder auf Naturstoffen oder deren Derivaten.^[4,9] Interessanterweise wurden über 90% der 200000 bisher bekannten Naturstoffe, aufgrund zu geringer verfügbarer Mengen, oder zu geringer Reinheit, nicht auf deren biologische Aktivität hin untersucht.^[10] Eine Möglichkeit größere Mengen von Sekundärmetaboliten in entsprechender Reinheit darzustellen, bildet die chemische Totalsynthese.

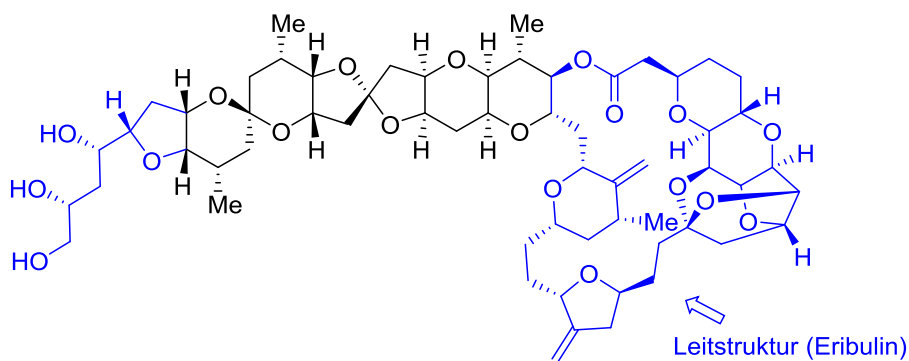
Das 1990 aus dem karibischen Tiefseeschwamm *Discodermia dissoluta* isolierte Polyketid (+)-Discodermolid (**1**) (Abbildung 1.1) zeigt eine sehr potente Stabilisierung der Mikrotubuli was zur Unterbrechung des Zellzyklus in der G₂/M-Phase führt. Aufgrund dessen, dass dieser Naturstoff lediglich 0.002 Gew.-% der Trockenmasse des Schwammes ausmacht,^[11] konnte für die ausführlichen pharmakologischen Untersuchungen nicht ausreichend Material isoliert werden. Basierend auf den berichteten Totalsynthesen der Gruppen von Schreiber,^[12] Smith,^[13] und Paterson^[14] entwickelten Chemiker der Novartis AG 2004 eine 39-stufige Synthese und stellten dabei 60 g des Naturstoffes (+)-Discodermolid (**1**) mit einer Gesamtausbeute von 1.1% her.^[15-19]



1: (+)-Discodermolid

Abbildung 1.1: Das aus dem Tiefseeschwamm *D. dissoluta* isolierte Polyketid (+)-Discodermolid (**1**) stabilisiert Mikrotubuli und führt dadurch zur Unterbrechung des Zellzyklus.

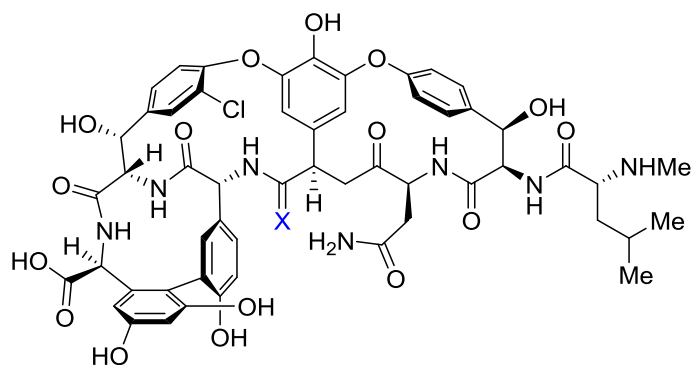
Auch der aus dem marinen Schwamm *Halichondria okadai* isolierte Polyether Halichondrin B (**2**) (Abbildung 1.2) interagiert mit den Mikrotubuli und leitet dadurch die Apoptose ein.^[20] Die zur weiteren Validierung als Krebsmedikament benötigten Untersuchungen konnten jedoch, aufgrund zu geringer verfügbarer Substanzmengen, nicht durchgeführt werden. Durch die Totalsynthese der Gruppe von Kishi 1992^[21] und deren anschließenden Kooperation mit Eisai, konnten Analoga hergestellt und auf deren biologische Aktivität untersucht werden. Dabei wurde die in Abbildung 1.2 blau hervorgehobene Leitstruktur gefunden, die von Chemikern bei Eisai, analog der zuvor publizierten Synthese der Gruppe um Kishi, im 250 g Maßstab über 62 Stufen hergestellt wurde.^[22-24] Der daraus resultierende Wirkstoff Eribulin wird in Form eines Mesitylatsalzes zur Behandlung von metastasierendem Brustkrebs im späten Stadium eingesetzt.^[25]



2: Halichondrin B

Abbildung 1.2: Der aus dem Schwamm *H. okadae* isolierte Polyether Halichondrin B (2) sowie in blau dargestellt, die durch Totalsynthese gefundene Leitstruktur.

Durch die Totalsynthese des in Abbildung 1.3 gezeigten Antibiotikums Vancomycin (3)^[26] sowie der Darstellung diverser Derivate durch die Gruppe um Boger, wurde u. A. das amidinierte Vancomycin-Analogon 4 erhalten. Interessanterweise zeigt letzteres antibiotische Aktivitäten gegen Mikroorganismen, die gegenüber Vancomycin resistent sind.^[27]

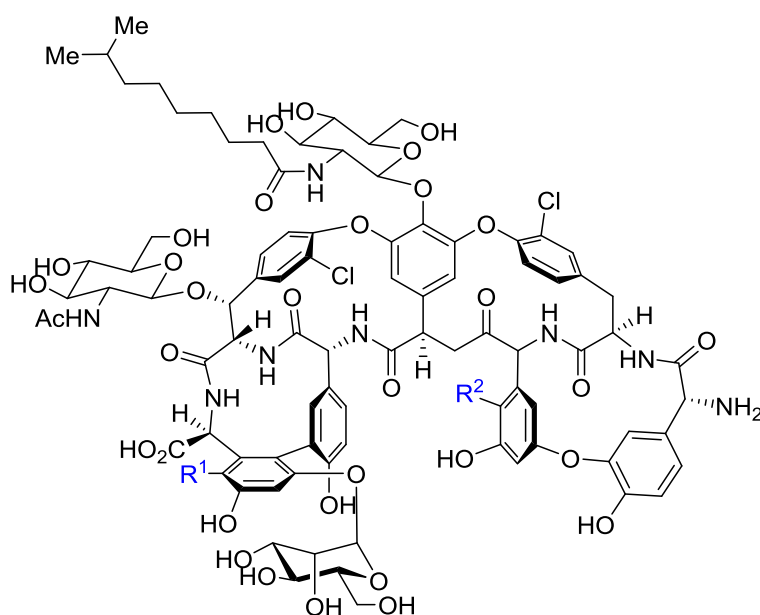


3: X = O: Vancomycin
4: X = NH: Amidiniertes Vancomycin

Abbildung 1.3: Das Antibiotikum Vancomycin (3) und dessen totalsynthetisch dargestelltes Derivat 4. Durch die Amidinierung konnten die gegen Vancomycin entwickelten Resistenzmechanismen umgangen werden.

Aus totalsynthetischen Arbeiten ergeben sich häufig neue Methoden und Erkenntnisse über die Aktivitäten funktioneller Gruppen innerhalb komplexer Moleküle.^[4,8] Diese können beispielsweise für die selektiven semisynthetischen Modifikationen isolierter Naturstoffe relevant sein. Exemplarisch hierfür soll auf die Halogenierung des in Abbildung 1.4 dargestellten, ungeschützten Glykopeptids Teicoplanin-A₂-2 (5) eingegangen werden. Wie durch die Arbeitsgruppe um Miller gezeigt wurde, sind die blau markierten, aromatischen Positionen selektiv bromierbar. Das Derivat 6 wird durch Reaktion des Naturstoffes mit

N-Bromphtalimid als Bromierungsreagenz in Gegenwart des Peptids Boc-Asn(Me)₂-Leu-*D*-Ala-OH erhalten. Für die selektive Darstellung des Bromids **7** wird die Halogenierung in Anwesenheit des Tripeptids Boc-Asn(Me)₂-*D*-Leu-*D*-Ala-OH durchgeführt.^[28]



5: $R^1 = R^2 = H$: Teicoplanin-A₂-2

6: $R^1 = Br, R^2 = H$

7: $R^1 = H, R^2 = Br$

Abbildung 1.4: Die beiden Bromderivate **6** und **7** können selektiv, durch die Wahl des Tripeptids Boc-Asn(Me)₂-Leu-*D*-Ala-OH oder Boc-Asn(Me)₂-*D*-Leu-*D*-Ala-OH aus dem Naturstoff Teicoplanin-A₂-2 (**5**) erhalten werden.

Die Totalsynthese und die chemische Modifikation von Naturstoffen wird ebenfalls zur Darstellung biologischer Sonden genutzt.^[8,29] Letztere werden unter anderem in der Zell- und Systembiologie genutzt, um Proteinfunktionen,^[7] Protein-Protein-Interaktionen innerhalb zellulärer Netzwerke^[4,10] oder unbekannte Mechanismen in Stoffwechsel- oder Signalwegen^[6] zu untersuchen. Weiterhin können diese Sonden genutzt werden, um Proteine grundlegend zu charakterisieren.

Ein bedeutendes Beispiel, in der ein Naturstoff als Sonde fungiert, stellt das aus dem Pilz *Helicoma ambiens* isolierte Zytostatikum Trapoxin A (**8**) (Abbildung 1.5) dar.^[30] Letzteres wurde mittels Totalsynthese auf inertem Trägermaterial immobilisiert und zur Identifikation des biologischen Zielmoleküls verwendet.^[31,32] Das gebundene Enzym wurde als humane Histondeacetylase 1 (HD1, heute HDAC1) bezeichnet. Interessanterweise konnte zum ersten Mal ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Acetylierung der Histone und dem Verlauf des Zellzyklus hergestellt werden.^[31,32] Diese Erkenntnis führte im Folgenden zur Entwicklung der auf HDAC-Inhibitoren-basierenden Krebstherapie.^[6]

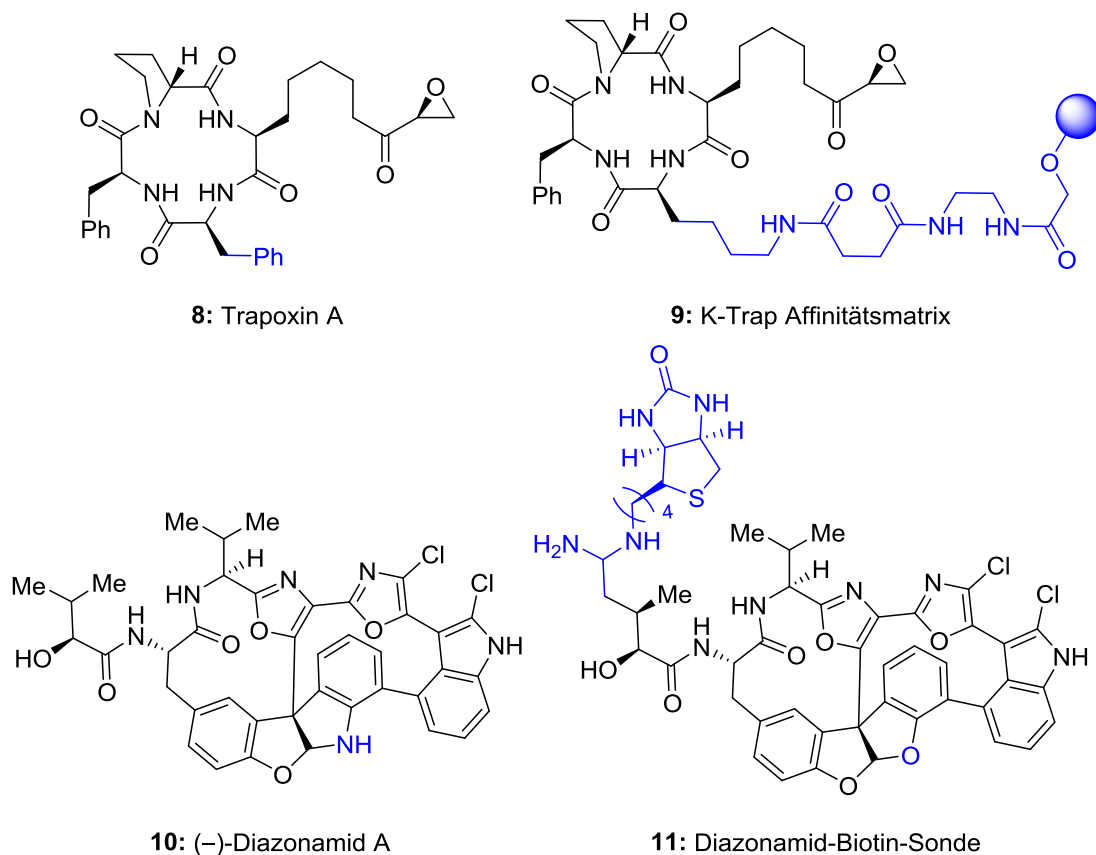


Abbildung 1.5: Beispiele für totalsynthetisch dargestellte Sonden zur Untersuchung biologischer Systeme, die auf Naturstoffen basieren. Während durch die Verwendung, der auf Trapoxin A (**8**) basierenden, Affinitätsmatrix **9** der Zusammenhang zwischen Acetylierungsgrad der Histone und dem Zellzyklus gezeigt werden konnte, wurde durch die, auf Diazonamid A (**10**) basierte, Biotinsonde **11** die Notwendigkeit des Rezeptors Ornithin δ -Aminotransferase für die Entwicklung sich schnell vermehrender Zellen entdeckt.

Ein weiteres Beispiel stellt das (-)-Diazonamid A (**10**) dar. Dieser, in Abbildung 1.5 gezeigte, azolhaltige Bizyklus wurde aus der marinen Seescheide *Diazona angulata* isoliert^[33] und verfügt über eine potente zytotoxische Aktivität gegenüber verschiedenen Krebszelllinien.^[34] Zwar interagiert dieser Naturstoff mit den Mikrotubuli, konkurriert jedoch nicht mit anderen bekannten Mikrotubuli-Stabilisatoren, bzw. zeigt nicht deren Nebenwirkungen.^[35] Aus diesen Gründen wurde für (-)-Diazonamid A ein andersartiger Wirkungsmechanismus angenommen. Nachdem die Gruppe um Harran die Totalsynthese des Bioxazols **10** abgeschlossen hatte^[34] und mit dieser Arbeit auch die zuvor postulierte Struktur des Naturstoffes korrigieren konnte, wurde von den Gruppen um Harran und Wang das Biotinderivat **11** totalsynthetisch dargestellt.^[36] Mit Hilfe dieser Sonde konnte die Ornithin δ -Aminotransferase als biologisches Zielmolekül identifiziert werden. Letztere war bereits als essentieller Bestandteil des mitochondrialen Ornitinkatabolismus be-

kannt^[37] und konnte während dieser und anderer Studien,^[36,38,39] als therapeutischen Ansatz zur selektiven Behandlung von Krebs identifiziert werden.

Früher war die Totalsynthese zusätzlich zur Strukturaufklärung oder zur Bestätigung vorgeschlagener Strukturen unverzichtbar.^[8] Aufgrund der Entwicklung moderner Analysemethoden, wie der Kernspinresonanz, oder der Röntgenkristallstrukturanalyse, wird die Totalsynthese immer seltener für diese Zwecke herangezogen. Nichtsdestotrotz finden sich auch in jüngerer Literatur immer wieder Beispiele, bei denen Struktur oder Konfiguration eines Zielmoleküls nach dessen Totalsynthese korrigiert werden mussten. Hier können z. B. die über die chemische Darstellung korrigierten Strukturen des zuvor gezeigten (–)-Diazonamid A (**10**, Abbildung 1.5)^[34] sowie der beiden in Kapitel 2.1 näher beschriebenen Cyanobaktine Patellamids A (**16**, Abbildung 2.1)^[40] und Lissoclinamid 4 (**18**, Abbildung 2.1)^[41] genannt werden.

1.3 Totalsynthese in dieser Arbeit

In dieser Arbeit sollte eine biomimetische, selektive und flexible Totalsynthese des makrozyklischen, azolhaltigen Naturstoffes Urukthapelstatin A (**12**) entwickelt werden. Dieses ist Teil der YM-216391-Familie, die bisher aus den in Abbildung 1.6 gezeigten peptidischen Makrozyklen besteht. Die Existenz eines vierten Vertreters dieser Gruppe wurde vor Kurzem anhand von Genom- und Massenanalysen vermutet.^[42] Ähnlich der strukturell verwandten Cyanobaktine (Kapitel 2.1) wird die YM-216391-Familie zur Klasse der Thiazol/Oxazol modifizierten Micrococcine (TOMM) gezählt.^[43]

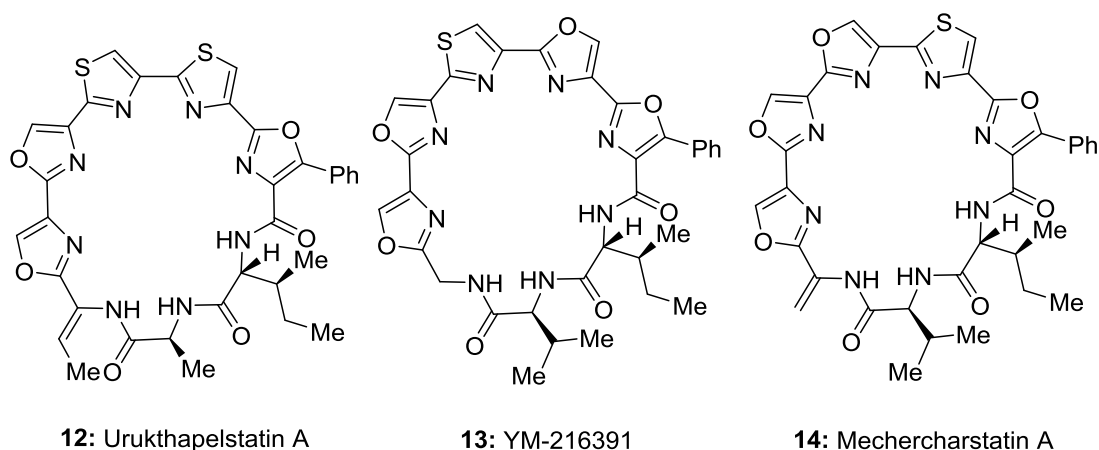


Abbildung 1.6: Die bisher bekannten Mitglieder der YM-216391-Familie: Das Synthesziel der vorliegenden Arbeit: Urukthapelstatin A (**12**), der Namensgeber dieser Familie, das YM-216391 (**13**) sowie der strukturell verwandte Sekundärmetabolit Mechercharstatin A (**14**).

Die Klasse der TOMMs wird im folgenden Kapitel besprochen. Dabei soll besonders auf die Gruppe der Cyanobaktine (Kapitel 2.1) sowie der kleineren YM-216391-Familie und zwei weiteren, strukturell ähnlichen Makrozyklen eingegangen werden. Nach der Zusammenfassung bereits durchgeführter Totalsynthesen, bzw. totalsynthetischer Ansätze strukturell verwandter makrozyklischer Sekundärmetaboliten (Kapitel 2.2.3) sowie einer Analyse der bei deren Synthese aufgetretenen Problemen (Kapitel 2.3), erfolgt die Darlegung der Ziele dieser Arbeit (Kapitel 3).

2 Thiazol/Oxazol modifizierte Micrococcine

Die Gruppe der TOMMs umfasst Genomstudien aus dem Jahr 2015 zufolge mindestens 1500 Verbindungen.^[43] Diese Sekundärmetaboliten gehören zu den ribosomal synthetisierten und posttranslational modifizierten Peptiden (RiPPs). Allen Mitgliedern dieser Gruppe gemeinsam ist das Vorkommen von Thiazol(in)en, oder Oxazol(in)en, die über eine Heterozyklase aus Serin-, Threonin- oder Cystein-Seitenketten biosynthetisch aufgebaut werden. Die für die Biosynthese dieser Klasse an Sekundärmetaboliten kodierenden Gene weisen alle ein Dockingprotein auf, das wahrscheinlich die Heterozyklase-Aktivität reguliert sowie die Biosynthesemaschinerie aktiviert (siehe Kapitel 2.1.1).

2.1 Cyanobaktine

Als Cyanobaktine wird eine große Stoffklasse bezeichnet, die von verschiedenen Stämmen der Gattung der Cyanobakterien produziert werden. Cyanobakterien sind Photosynthese betreibende, teilweise N₂-fixierende, autotrophe Organismen, die oft in Symbiose mit Wirbellosen leben.^[44] Nachdem Ireland und Scheuer^[45] von der Isolierung von Ulithiacyclamid (**15**) (Abbildung 2.1) aus dem Manteltier *Lissoclinum patella* 1980 berichteten, erschienen in den darauf folgenden Jahren Berichte über ähnliche Verbindungen wie dem Lissoclinamid (**18**) von der Arbeitsgruppe Schmidt.^[46] Diese und andere Gruppen konnten ebenfalls zeigen, dass das 1980 isolierte Ulithiacyclamid (**15**) nicht von *L. patella* selbst, sondern von dem damit in Symbiose lebenden Cyanobakterium *Prochloron sp.* über ribosomale Peptidsynthese produziert wird.^[46-49] Cyanobaktine konnten auch aus anderen maritimen Organismen, wie Seescheiden, Schwämmen sowie Weichtieren isoliert und deren Synthese auf Cyanobakterien zurückgeführt werden.^[46,49]

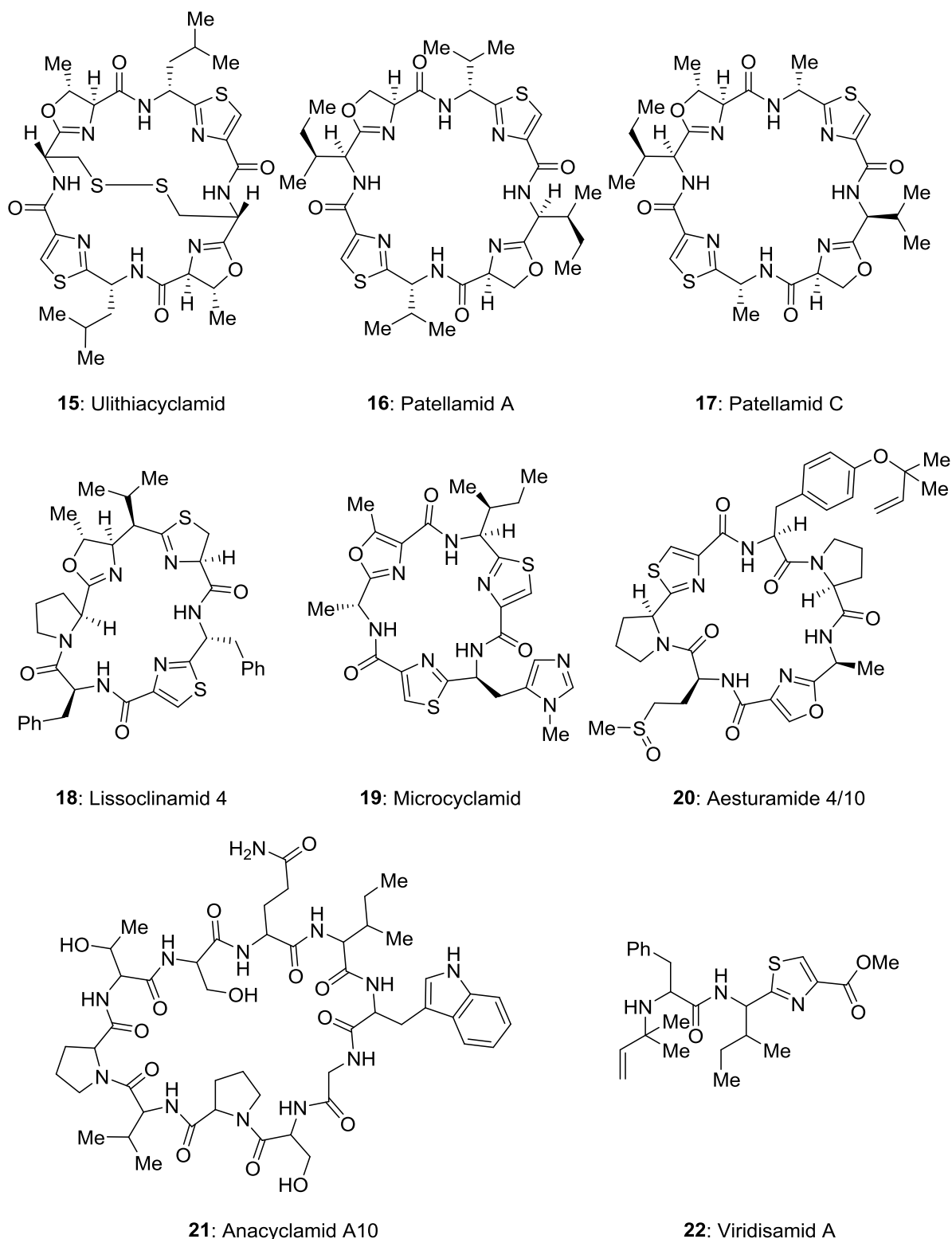


Abbildung 2.1: Darstellung einer Auswahl verschiedener Cyanobaktine, die über ribosomale Peptidsynthese und anschließende posttranslationale Modifikationen erhalten werden und sowohl makrozyklische, als auch lineare Strukturen aufweisen können.

Das aus *L. patella* bei Palau isolierte Ulithiacycloamid (**15**) ist ein zyklisches Oktapeptid, das zwei Oxazoline sowie zwei Thiazole und als bisher einziges bekanntes Cyanobaktin eine Disulfidbrücke enthält.^[45,50] Die ebenfalls von *L. patella* auf einer Insel vor Palau

produzierten Cyanobaktine Patellamid A (**16**) und Patellamid C (**17**) wurden 1982 isoliert. Diese zyklischen, ebenfalls aus acht Aminosäuren bestehenden Sekundärmetaboliten enthalten zwei Oxazoline sowie zwei Thiazole.^[51] 1989 wurden das zyklische Heptapeptid Lissoclinamid 4 (**18**) sowie zwei weitere Derivate aus derselben Quelle isoliert. Der Naturstoff **18** enthält ein Oxazolin, ein Thiazolin und ein Thiazol.^[52,53] Das 2000 aus dem blühenden, nicht in Symbiose lebenden Cyanobakterium *Microcystis aeruginosa* NIES-298 isolierte Zyklohexapeptid Microcyclamid (**19**) enthält ein *N*-Methylhistidin, zwei Thiazole, ein Oxazol sowie ein *D*-Alanin.^[54] Das von der Arbeitsgruppe Leikoski isolierte Anacyclamid A10 (**21**) gehört zu einer Vielzahl von zyklischen Peptiden, die von Mikroorganismen des Stammes *Anabaena* gebildet werden. Alle diese Cyanobaktine enthalten ein oder mehrere Proline, jedoch weder Azoline noch Azole.^[55] Die Existenz einiger Aesturamide, wie dem Aesturamid 4/10 (**20**) das wahrscheinlich von *Lyngbya aestuarii* CCY9616 (PCC 8106) produziert wird, wurden über Genomabgleiche mit bekannten Cyanobaktine produzierenden Stämmen postuliert. Aesturamid 4/10 (**20**) ist ein zyklisches Heptapeptid, das zwei Thiazole, ein oxidiertes Methionin sowie ein *O*-prenyliertes Tyrosin enthält.^[48] Die zunächst vorgeschlagenen Strukturen von Patellamid A, Microcyclamid sowie anderer Cyanobaktine wurden später durch Kristallstrukturen oder totalsynthetische Darstellung revidiert.^[40,56-59]

Die Substanzklasse der „Cyanobaktine“ wurde 2008 aufgrund von Ähnlichkeiten in deren Strukturen sowie dem biologischen Syntheseweg eingeführt.^[48] Nach dieser umfasst die Gruppe der Cyanobaktine, von Cyanobakterien produzierte, ribosomal synthetisierte und posttranslational modifizierte Peptide (RiPPs). Zu diesen Modifikationen zählen die Zyklodehydratisierung zu Heterozyklen, wie Thiazolinen und Oxazolinen, deren Oxidation zu Thiazolen und Oxazolen sowie die Epimerisierung zu *D*-Aminosäuren und die Prenylierung funktioneller Gruppen an den Seitenketten.^[48,60] 2010 wurde die Klasse der Cyanobaktine auf ausschließlich aus proteinogenen Aminosäuren aufgebaute Sekundärmetaboliten bezogen.^[55] Auch wurde die Definition um lineare Peptide mit identischem Ursprung und ähnlichen Modifikationen erweitert, wie dem in Abbildung 2.1 gezeigten Viridisamid A (**22**).^[61] Das Biosynthesecluster (siehe Kapitel 2.1.1) für dieses lineare Tripeptid wurde 2013 über einen Abgleich der Genome von 126 verschiedenen Cyanobakterien in *Oscillatoria nigro-viridis* PCC 7112 gefunden. Viridisamid A (**22**) enthält ein Thiazol, einen prenylierten *N*- sowie einen methylierten *O*-Terminus.^[62]

2.1.1 Biosynthese

Wie in Kapitel 2 beschrieben, wurde das Wissen um die Biosynthese der Cyanobaktine sowohl zur Definition der Substanzklasse, als auch zur Suche nach weiteren, bisher nicht isolierten Sekundärmetaboliten dieser Gruppe verwendet. Die charakterisierten post-translationalen Modifikationen und die dafür benötigten Gene (Abbildung 2.2) sollen im Folgenden anhand der Biosynthese von Patellamid A (**16**) diskutiert werden.

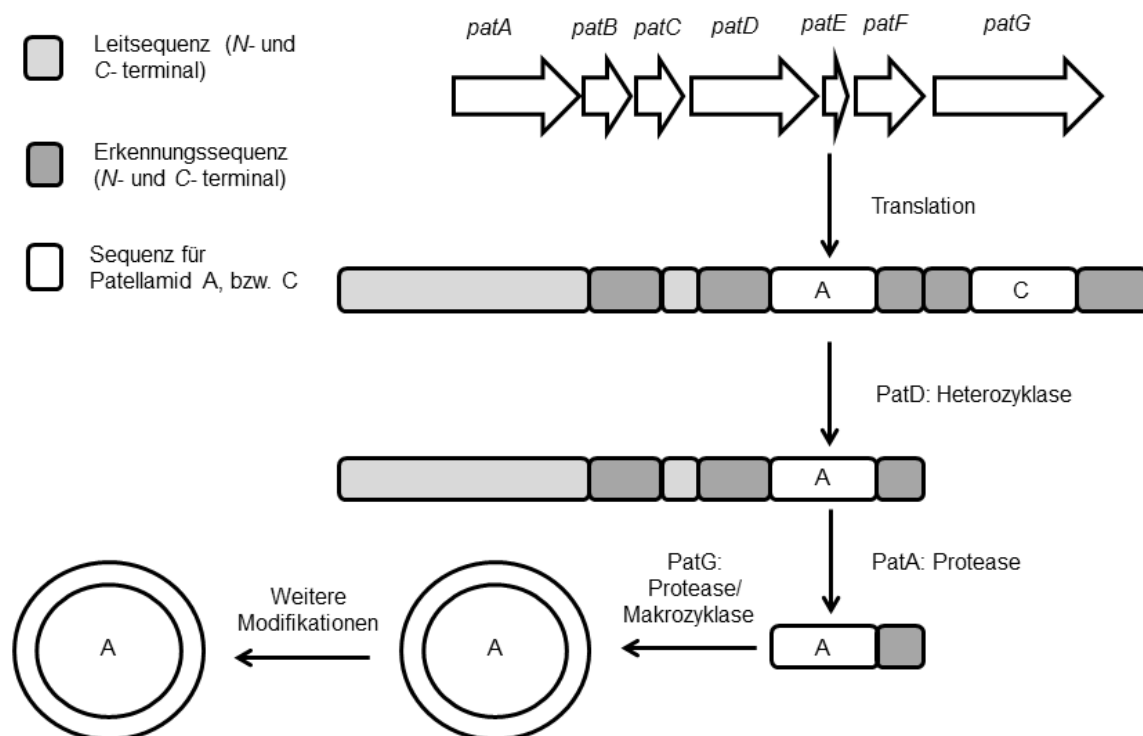


Abbildung 2.2: Übersicht des generellen Biosyntheseweges der Cyanobaktine, dargestellt anhand des Beispiels von Patellamid A, nach Martins *et al.*^[61]

Das *pat* Gencluster umfasst etwa 10.5 kb und besteht aus sieben Genen (*patA-patG*). *patA* kodiert für eine N-terminale Serin-Protease, *patG* für eine Subtilisin ähnliche C-terminale Serin-Protease, die eine Makrozyklase- sowie eine Oxidase-Domäne enthält, die die Oxidation der Azoline katalysiert.^[60,62-65] Die Funktion der Gene *patB* und *patC* konnte bisher noch nicht geklärt werden, jedoch sind diese in allen bisher untersuchten Genomen Cyanobaktin produzierender Stämme vorhanden. Über heterologe Expression des Genclusters in *Escherichia coli* konnte gezeigt werden, dass die Gene *patB* und *patC* nicht essentiell sind.^[44,47,48,66] *patD* kodiert für eine Zyklodehydratase, die Threonin, Serin oder Cystein in Thiazolin, oder die entsprechenden Oxazoline überführt.^[46,66-68] *patE* codiert für das Präpeptid, bestehend aus einer 37 Aminosäuren langen, helikalen, hoch konservierten, hydrophoben Leitsequenz, die zur Erkennung des Peptides essentiell ist sowie den Sequenzen für Patellamid A (**16**) (VTACITFC), Patellamid C (**17**) (ITVCISVC) und die

jeweiligen vier bis fünf Aminosäuren langen Erkennungssequenzen für die Proteasen A und G.^[44,46,47,66,69,70] Das Gen *patF* ist in fast allen Biosynthesewegen von Cyanobakterien vorhanden, die bisher bekannte Funktion besteht in dem Transfer von Prenyl-, oder Geranyl-Gruppen auf Seitenketten. Weitere Aufgaben des entsprechenden Proteins sind wahrscheinlich, konnten bisher jedoch nicht nachgewiesen werden.^[44,46,60,71,72]

Nachdem *patE* translatiert worden ist, werden zuerst die Peptide für Patellamid A und C getrennt (Abbildung 2.2), anschließend erfolgt die Bildung der Azoline über die ATP-abhängige Heterozyklase D^[68,73] sowie die Entfernung der *N*-terminalen Erkennungssequenz durch die Serin-Protease A. Danach erfolgt die Abspaltung der *C*-terminalen Erkennungssequenz und die simultane ablaufende Makrozyklisierung durch die G-Protease.^[46]

Nach Oxidation der Azoline zu Azolen durch die FMN-abhängige Oxidasedomäne von PatG^[74] können noch andere Modifikationen wie Prenylierungen erfolgen. Epimerasedomänen wurden innerhalb der untersuchten Gencluster bisher nicht gefunden, daher wird spekuliert, dass die Bildung der *D*-Aminosäuren nicht gezielt katalytisch erfolgt.^[73,75]

Die komplette genetische und strukturelle Diversität der Cyanobaktine wurde wahrscheinlich noch nicht vollständig erfasst.^[61] Momentan sind über 100 Vertreter dieser Familie bekannt, die entweder durch Isolierung oder über Genabgleiche bekannter Gencluster mit den Genomen neu entdeckter Cyanobakterien deduziert werden konnten.^[44,76] Derzeit wird davon ausgegangen, dass etwa 10-30% aller Cyanobakterien die zur Herstellung von Cyanobakterien nötigen Gencluster enthalten.^[48,66,71,77,78]

2.1.2 Biologische Aktivität

Cyanobaktine zeigen unterschiedliche biologische Aktivitäten. Viele dieser Sekundärmetaboliten sind moderat zytotoxisch gegenüber Pro- und Eukaryoten, wirken jedoch selten fungizid.^[44,66] Die *in vitro* IC₅₀-Werte von Ulithiacyclamid (**15**), Patellamid A (**16**) und Patellamid C (**17**) gegen murine L1210 Leukämiezellen liegt bei 0.35 µg/mL, 3.9 µg/mL, bzw. 3.2 µg/mL. Bei der KB Zelllinie liegt der IC₅₀-Wert von Ulithiacyclamid (**15**) bei 35 ng/mL und für Patellamid A (**16**) sowie Patellamid C (**17**) bei 3.0 µg/mL und 6.0 µg/mL.^[44,51,79-82] *In vitro* Versuche zur Wachstumsinhibierung der lymphatischen Leukämie Zelllinie P-388 mit Lissoclinamid 4 (**18**) ergaben einen ED₅₀-Wert von 6.9 µg/mL, bei Microcyclamid (**19**) wurde ein IC₅₀-Wert von 1.2 µg/mL erhalten.^[54,79] Die Zytotoxizität von Ulithiacyclamid (**15**) wurde früh mit der irreversiblen Spaltung der Disulfidbindung und einer Inhibierung der RNS und DNS Synthese in Verbindung ge-

bracht.^[83,84] Mit Ulithiacyclamid (**15**) durchgeführte Tierstudien wurden aufgrund der zu hohen Toxizität abgebrochen.^[69] Bei keinem der bisher getesteten Cyanobakterien konnte darüber hinaus eine selektive Wirkung gegenüber soliden Tumoren festgestellt werden.^[61]

Einige Cyanobaktine wirken der *Multidrug*-Resistenz einiger Zelllinien entgegen, wie Patellamid C (**17**)^[66,85,86] und zeigen biologische Aktivität gegenüber *Plasmodium falciparum*,^[59,61,87] wirken antiviral, antibakteriell, oder haben allelopathische Eigenschaften.^[62,88-90] Keine dieser Aktivitäten hat bislang jedoch zu fortgeschrittenen Anwendungen geführt.

2.2 Zyklische 2,4'-verknüpfte Oligoazole

Eine zu den Cyanobaktinen strukturell ähnliche Substanzklasse bilden die zyklischen, caternierten Oligoazole, zu denen unter anderem Telomestatin (**23**), Marthiapeptid A (**24**) sowie die bereits in Kapitel 1.3 kurz dargestellten Sekundärmetaboliten YM-216391 (**13**), Mechercharstatin A (**14**; zuvor Mechercharmycin/IB-01211)^[91,92] und Urukthapelstatin A (**12**) (Abbildung 2.3) zählen.^[50,93]

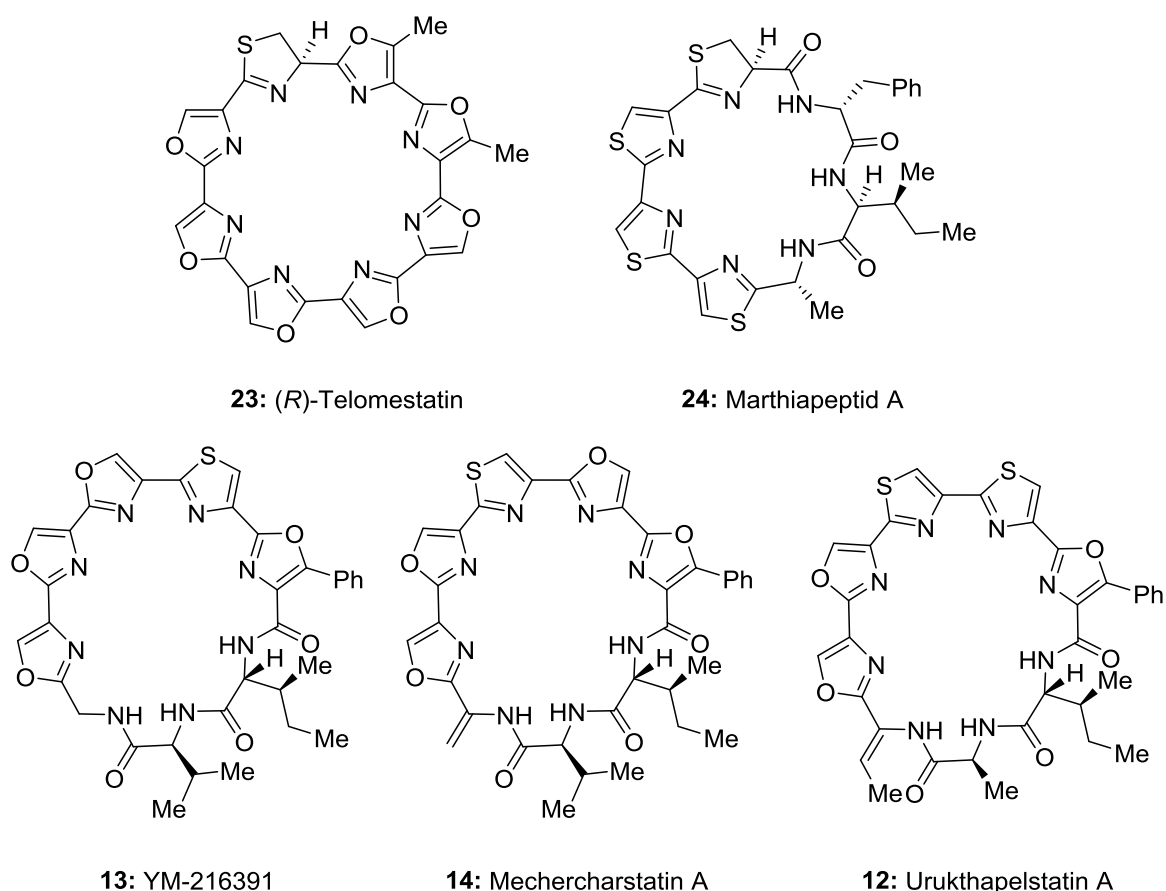


Abbildung 2.3: Eine Auswahl makrozyklischer, aufeinanderfolgender Oligoazole; Telomestatin (**23**), Marthiapeptid A (**24**), YM-216391 (**13**), Mechercharstatin A (**14**) und Urukthapelstatin A (**12**).

Die Isolierung von Telomestatin (**23**) aus *Streptomyces anulatus* 3533-SV4 wurde 2001 von der Arbeitsgruppe Seto berichtet.^[94] Dieser 24 gliedrige, nur aus 2,4'-verknüpften Heterozyklen aufgebaute und fast vollständig planare Makrozyklus besteht aus fünf Oxazolen, zwei 5-Methyl-Oxazolen sowie einem Thiazolin. Die absolute Stereochemie dieses Naturstoffes wurde über dessen Totalsynthese belegt.^[95]

Die Fermentation und Isolierung von Marthiapeptid A (**24**) aus dem Aktinomyzeten *Marinactinospora thermotolerans* SCSIO 00652 vom Sediment des südchinesischen Meeres wurde 2012 von der Arbeitsgruppe Ju veröffentlicht.^[93,96] Dieser 21 gliedrige Makrozyklus besteht aus drei aufeinander folgenden 2,4'-verknüpften Thiazolen sowie einem Thiazolin und einem *L*-Cys-*L*-Ile-*D*-Phe Tripeptid.

Die Struktur sowie Isolierung und Fermentation von YM-216391 (**13**) aus dem Myzel von *Streptomyces nobilis* JCM 4274 wurden 2004 von Tanaka *et al.* publiziert.^[97,98] Dieser 24 gliedrige Makrozyklus besteht aus fünf 2,4'-verknüpften, caternierten Azolen, drei Oxazolen, einem Thiazol sowie einem 5-Phenyl-Oxazol und dem Gly-*L*-Val-*D*-allo-Ile Tripeptid. Die zur YM-216391-Familie gehörenden, 24 gliedrigen Makrozyklen, Mechercharstatin A (**14**) und Urukthapelstatin A (**12**) weisen ebenfalls fünf Azole, darunter ein 5-Phenyl-Oxazol sowie *D*-allo-Isoleucin und zwei weitere miteinander verbundene Aminosäuren auf. Die Isolierung von Mechercharstatin A (**14**) aus dem Stamm *Thermoactinomyces* sp. YM3-251, der auf der Insel Mecherchar gefunden wurde, wurde 2005 von der Arbeitsgruppe Shizuri berichtet.^[99] Dieser Makrozyklus besteht, wie auch YM-216391 (**13**) aus drei Oxazolen, einem Thiazol und einem 5-Phenyl-Oxazol sowie *D*-allo-Isoleucin und *L*-Valin. Anstelle des Glycins bei YM-216391 (**13**) enthält Mechercharstatin A (**14**) ein Dehydroalanin. Die Isolierung von Urukthapelstatin A (**12**) aus dem *Thermoactinomycetaceae* *Mechercharimyces asporophorigenens* YM11-542 von einem See auf Mecherchar sowie die Kristallstruktur wurden 2007 von Shizuri *et al.* publiziert.^[92,100] Dieser Makrozyklus besteht aus zwei Oxazolen, zwei Thiazolen, einem 5-Phenyl-Oxazol sowie einem *Z*-Dehydrobutyrin-*L*-Ala-*D*-allo-Ile Tripeptid.

Alle diese Sekundärmetaboliten weisen eine antiproliferative Wirkung gegen verschiedene Krebszelllinien auf. Die Effektivität der einzelnen Makrozyklen sowie mögliche biologische Wirkorte und -mechanismen sind Gegenstand des nachfolgenden Kapitels.

2.2.1 Biologische Wirkung und potentielle Wirkorte

Die für Telomestatin (**23**) bestimmten IC₅₀-Werte für verschiedene zervikale, tumorale Myeloma- und Neuroblastoma-Zelllinien lagen zwischen 0.1 und 5 µM.^[101-109] Zusätzlich

konnte ein antiplasmodialer Effekt mit einem GI_{50} -Wert von 5 μM bestimmt werden.^[110] Bei diesen Konzentrationen konnte keine Wirkung auf gesunde Zellen nachgewiesen werden.^[104] Für die Zytotoxizität von Marthiapeptid A (**24**) gegen verschiedene humane Krebszelllinien wurden IC_{50} -Werte zwischen 0.38 und 0.52 μM erhalten.^[111] Zusätzlich konnte für diesen Sekundärmetaboliten eine antibakterielle Wirkung gegen Grampositive Bakterien gezeigt werden. Die gemessenen MIC-Werte lagen im Bereich zwischen 2 und 8 μM .^[93] Untersuchungen zur antiproliferativen Wirkung des Makrozyklus YM-216391 (**13**) an humanen Gebärmutterhalskrebszellen der Linie HeLa S3 ergaben einen IC_{50} -Wert von 14 nM. Des Weiteren wurden die GI_{50} -, TGI- und LD_{50} -Werte für 39 weitere humane Krebszelllinien bestimmt.^[112] Die ermittelten Werte für diese drei Parameter variierten bei den GI_{50} -Werten zwischen 15 und 870 nM, bei den TGI-Werten zwischen 0.036 und 3 μM und bei den LD_{50} -Werten zwischen 0.083 und 10 μM .^[98] Für die antiproliferative Wirkung von Mechercharstatin A (**14**) gegen verschiedene Krebszelllinien wurden IC_{50} -Werte von 40 nM bis 100 nM gemessen.^[91,99,113] Wie bei dem strukturell verwandten YM-216391 (**13**) wurde auch die mittlere wachstumshemmende Konzentration von Urukthapelstatin A (**12**) sowie die TGI- und LD_{50} -Werte der 39 verschiedenen Krebszelllinien getestet. Die publizierten GI_{50} -Werte, die bei Lungen- und Eierstock-Karzinomen beobachtet wurden, lagen zwischen 3.5 und 5.2 nM. Als durchschnittlicher GI_{50} -Wert für alle getesteten Zelllinien wurden 15.5 nM angegeben.^[100]

Die Wirkungsweise der Verbindungen der YM-216391-Familie ist noch weitgehend unklar. Bei Telomestatin (**23**) hingegen wurde zunächst die Stabilisierung von G-Quadruplexen als einziger Wirkmechanismus angenommen.^[94,95,114,115] G-Quadruplexe sind DNS-Sekundärstrukturen, die in guanidinreichen Sequenzen, wie der Promotorregion einiger Gene sowie im Bereich der Telomere ausgebildet werden können.^[109,116,117] Durch Stabilisierung dieser Strukturen an den Telomeren wird die, in 85% der bekannten Krebszelllinien aktive Telomerase inhibiert.^[118-120] Dieses Enzym ist in normalen Zellen inaktiv, wodurch die Telomere bei jeder Replikation der Chromosomen verkürzt werden. Unterschreitet die Länge des Telomers eine bestimmte Anzahl an Basenpaaren kann der in Abbildung 2.4 gezeigte Komplex nicht mehr ausgebildet werden. Der daraus resultierende freie 3'-Überhang gleicht einem Einzelstrangbruch der DNS, was zur Seneszenz oder Apoptose der Zelle führt.^[115] Für die Inhibierung von Telomerase durch Telomestatin (**23**) wurde zuerst ein IC_{50} -Wert von 5 nM publiziert.^[94,95] In einer Veröffentlichung von De Cian *et al.* wurde dann thematisiert, dass der zur Bestimmung des IC_{50} -Wertes verwendete Test schlecht für Telomerase-Inhibitoren geeignet war.^[121,122] Eine erneute Bestimmung

lieferte einen IC_{50} -Wert von 58 nM.^[123,124] Entgegen der erst nach mehreren Zellzyklen einsetzenden Apoptose über die Inhibierung der Telomerase, ist eine wachstumshemmende Wirkung von Telomestatin (**23**) bereits nach wenigen Zellteilungen zu beobachten,^[110] was die Interaktion mit weiteren biologischen Targets, bzw. weitere Wirkungsweisen vermuten lässt. Eine dieser Wirkungsweisen ist die Destabilisierung („*uncapping*“) des in Abbildung 2.4 gezeigten Komplexes, zur Stabilisierung des 3'-Überhangs der Telomere. Für verschiedene Krebszelllinien konnte gezeigt werden, dass Telomestatin (**23**) zur Dissoziation der Faktoren TRF1/2 und POT1 von Telomeren führt, wodurch eine Beschädigung der DNS suggeriert wird. Dadurch wird die DDR Kaskade initiiert, wobei p53 gebildet wird, was in einer Apoptoseantwort oder Seneszenz der Zelle resultiert.^[105,106,115,120,125]

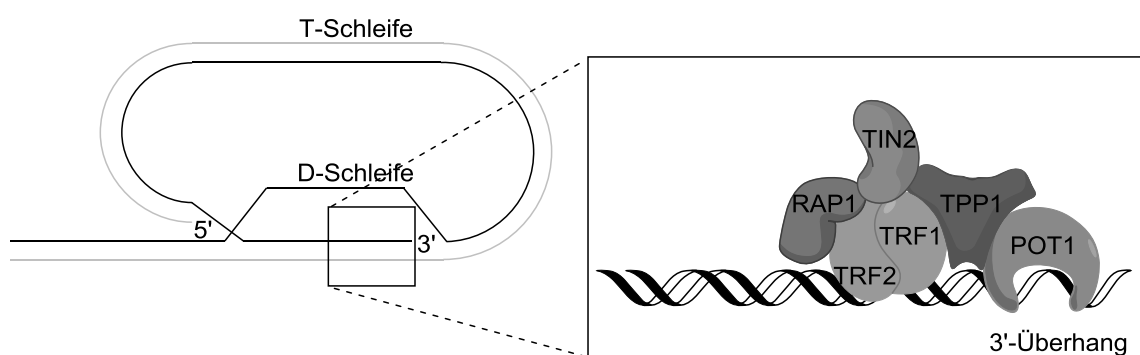


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung der Telomere sowie der vergrößerte Bereich des 3'-Überhangs mit dem Telomer stabilisierenden Komplex, nach Martínez *et al.*^[126] und Loos.^[127] POT1: *Protection of telomeres protein 1*, TPP1: *POT1-interacting protein*, TIN2: *TRF1-interacting protein 2*, TRF1/2: *Telomeric repeat binding protein 1/2*, RAP1: *Repressor/activator protein 1*.

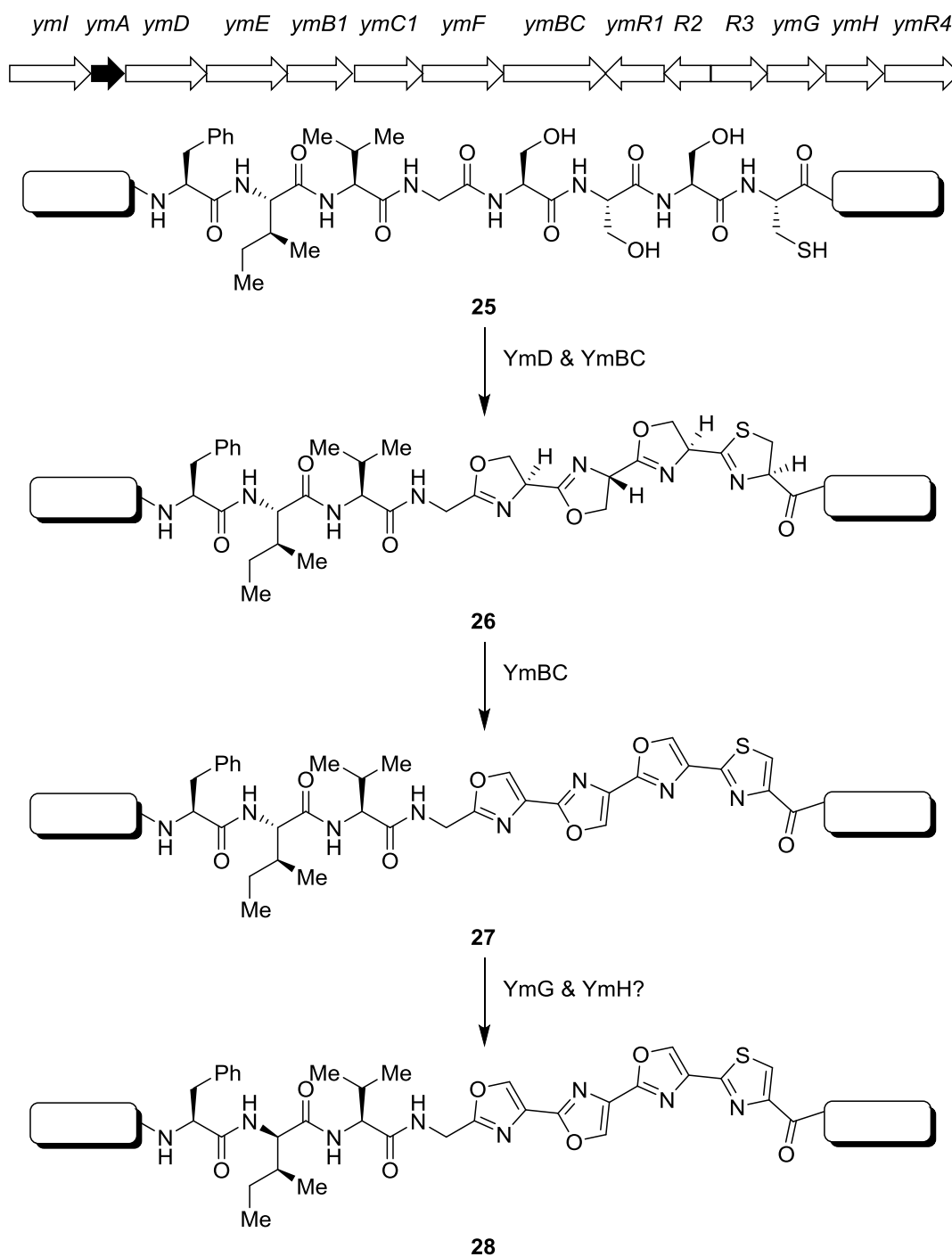
In den letzten Jahren wurden noch weitere Daten zu biologischen Targets von Telomestatin (**23**) publiziert.^[109,116,125] Ein Grund der Selektivität gegenüber normalen Zellen ist nicht bekannt.

Die durch Mechercharstatin A (**14**) induzierte Apoptose konnte von Hernández *et al.* mit der Freisetzung der Caspasen 3 und 7 in Verbindung gebracht werden.^[91] Genaue Wirkmechanismen und involvierte Signalwege konnten noch nicht aufgeklärt werden und sind Gegenstand der Forschung. Marthiapeptid A (**24**) und Urukthapelstatin A (**12**) wurden negativ auf die Stabilisierung von G-Quadruplexen sowie die Inhibierung von Telomerase, HDAC und Farnesyltransferase getestet.^[93,100] Urukthapelstatin A (**12**) hatte ebenfalls keinen Effekt auf das Proteasom.^[100] Die Aktivierung der Caspasen 3 und 7 erfolgt daher nicht über DDR, HDAC-, farnesyltransferase-, oder proteasominduzierte Freisetzung. Neben weiteren, bisher bekannten Initiatoren dieser Caspasen, könnte die Aktivierung letzte-

rer durch die Mitglieder der YM-216391-Familie über einen unbekannten Mechanismus erfolgen.

2.2.2 Biosynthese

Wie von der Arbeitsgruppe Tang gezeigt werden konnte, erfolgt die Biosynthese von YM-216391, analog der der Cyanobaktine (Kapitel 2.1.1) über ribosomale Peptidsynthese und anschließende posttranslationale Modifikationen (siehe Abbildung 2.5).^[128]



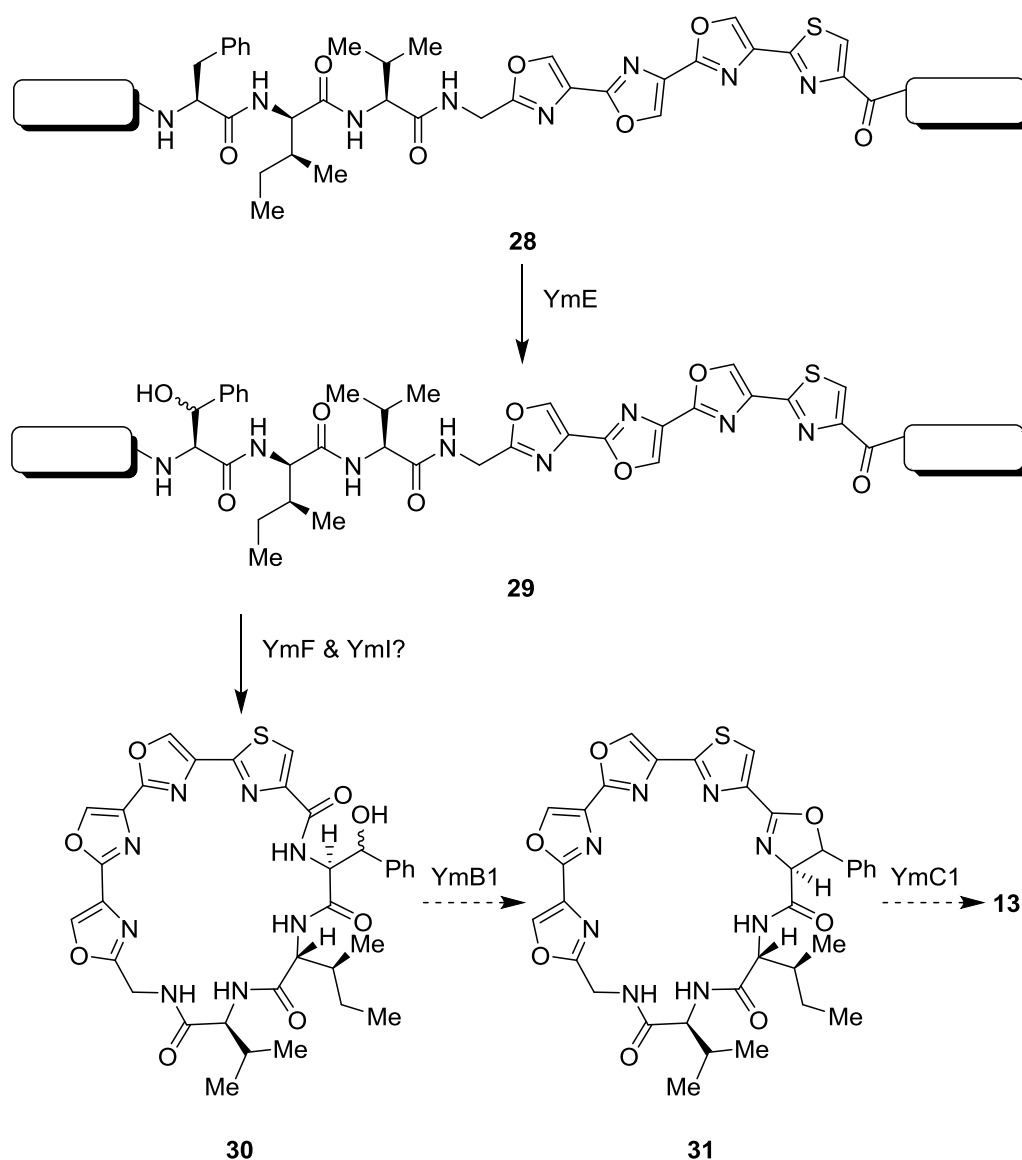
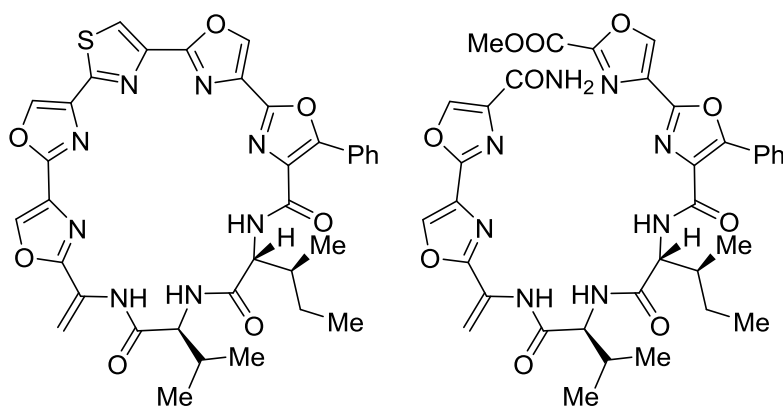


Abbildung 2.5: Postulierter Biosyntheseweg von YM-216391 nach Jian *et al.*^[128]

Mit einer postulierten Gesamtlänge von 9.29 Mb und 14 ORFs ist das Gencluster zur Darstellung von YM-216391 (**13**) etwa 100 Mal größer, als das des Cyanobaktins Patellamid A (**16**) (10.5 kb und sieben Gene). Über heterologe Expression in *S. lividans* 1326 und Charakterisierung des Naturstoffes über HPLC, LC-MS und HR-MS, konnte dieses Gencluster eindeutig der Biosynthese von YM-216391 (**13**) zugeordnet werden. Die Funktionen der an dieser Synthese beteiligten Proteine hingegen wurden anhand von Sequenzhomologien zu bereits bekannten Enzymen abgeleitet. Die Sequenzinformation des Sekundärmetaboliten ist dabei in *ymA* als 36 Aminosäuren langes Vorläuferpeptid kodiert. YmD und YmBC enthalten wahrscheinlich eine Zyklodehydrogenase-Oxidase-Domäne zur Darstellung der vier aufeinanderfolgenden Azole. Hierbei fungiert YmD als ATPase oder GTPase,^[129,130] YmBC verfügt über eine NADPH- bzw. FMN-Bindedomäne zur Oxidation der Azoline^[131,132] sowie einem Tetrathiolat-Motif zur Bin-

dung von Übergangsmetallen (wie Zink) zur Zyklodehydratisierung.^[129,133] Das zur Cytochrom P450 Monooxygenase sequenzhomologe YmE katalysiert wahrscheinlich die β -Hydroxylierung des Phenylalanins. Eine mögliche Epimerase zur Darstellung von *D-allo*-Isoleucin konnte bisher noch nicht nachgewiesen werden. Die Epimerisierung erfolgt wahrscheinlich auf der Stufe des Vorläuferpeptids und möglicherweise durch YmG und YmH. Die Erkennung des Leit- und Folgestrangs sowie deren Abspaltung und die Makrozyklisierung des Peptids werden wahrscheinlich von YmF und/oder YmI katalysiert.^[134] Anhand von Sequenzhomologien mit der Zyklodehydratase aus der Toxin Biosynthese wird angenommen, dass YmB1 die Zyklisierung des β -Hydroxy-Phenylalanins katalysiert,^[129] während YmC1 schwache Indizien für das Vorhandensein eines FAD-bindenden Motifs aufweist und somit die anschließende Oxidation zum 5-Phenyl-Oxazol katalysieren könnte. Die nachfolgenden ORFs *ymR1-ymR3* haben wahrscheinlich regulatorische Funktionen, wobei *ymR3* als Repressor fungiert. *ymR4* könnte als Efflux-Transporter fungieren und für die Resistenz des produzierenden Stammes gegenüber YM-216391 (**13**) verantwortlich sein. Die genaue Reihenfolge der oben beschriebenen Modifikationen ist nicht gesichert.^[128]

Unter der Annahme, dass das ebenfalls 2005 isolierte Mechercharmycin B (**32**, Abbildung 2.6) über die gleiche Biosynthesemaschinerie synthetisiert wurde, wie Mechercharstatin A (**14**), wären alle Modifikationen, bis auf die Ausbildung des zentralen Thiazols bereits vor der Makrozyklisierung durchgeführt worden.



14: Mechercharstatin A

32: Mechercharmycin B

Abbildung 2.6: Strukturen der Sekundärmetaboliten Mechercharstatin A (**14**) und Mechercharmycin B (**32**).

Für verschiedene Vertreter dieser Stoffklasse wurden bereits Totalsynthesen publiziert. Die Synthesen des Cyanobaktins Lissoclinamid 4 (**18**) sowie die in Kapitel 2.2 beschrie-

benen Naturstoffe Telomestatin (**23**) und Urukthapelstatin A (**12**) sollen im Folgenden kurz diskutiert werden.

2.2.3 Synthesen

Durch die im Jahre 2000 von Boden und Pattenden publizierte Totalsynthese von Lissoclinamid 4 (**18**) wurde dessen absolute Konfiguration korrigiert.^[41] Bei dieser Synthese wurde der lineare Vorläufer **38**, wie in Abbildung 2.7 gezeigt, durch iterative DCC-HOBt unterstützte Verknüpfung von BocHN-Ser-OH sowie aktiviertem Thioacyl **39**,^[135] BocHN-Thr-OH und BocHN-Phe-Pro-OH an den Thiazolbaustein **33** erhalten.

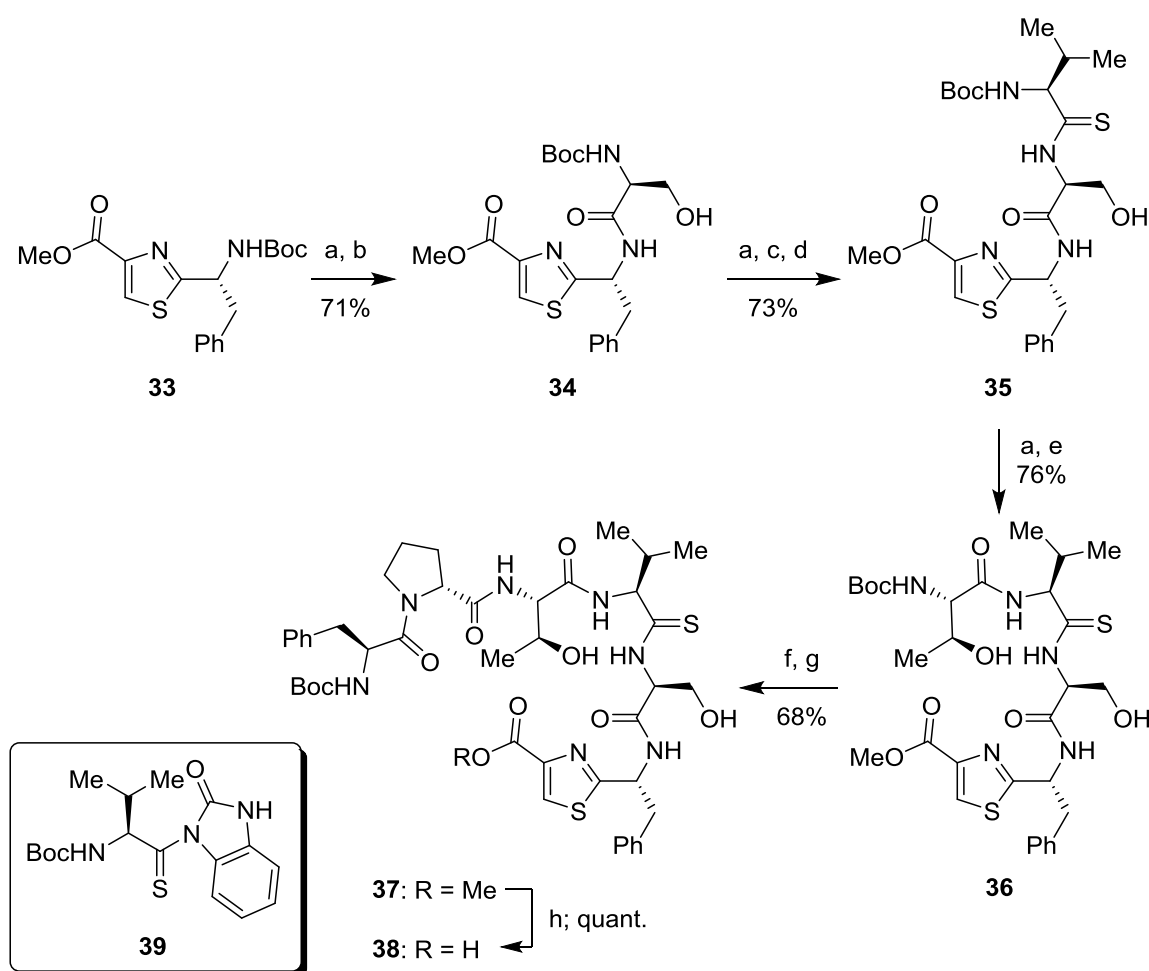


Abbildung 2.7: Darstellung des linearen Vorläufers **38** für die Totalsynthese von Lissoclinamid 4 (**18**) nach Boden *et al.*^[41] Bedingungen: a) 50 Vol.-% TFA, CH₂Cl₂, 25 °C; b) BocHN-Ser-OH, DCC, HOBt, NEt₃, CH₂Cl₂, 0 °C; c) NaHCO₃, CH₂Cl₂, H₂O; d) **39**, DMF, 0-5 °C; e) BocHN-Thr-OH, DCC, HOBt, Et₃NiPr₂, DMF, 0-25 °C; f) 20 Vol.-% TFA, CH₂Cl₂; g) BocHN-Phe-Pro-OH, DCC, HOBt, Et₃NiPr₂, DMF, 25 °C; h) NaOH, MeOH, H₂O.

Nach Abspaltung der Boc-Gruppe von Thiazol **38** durch 20 Vol.-% TFA in CH₂Cl₂ wurde Makrozyklus **40** mit DPPA und NMM in DMF mit einer Ausbeute von 30% erhalten (Ab-

bildung 2.8). Die anschließende Dizyklodehydratisierung erfolgte mit Burgess-Reagenz (**41**) bei 65 °C innerhalb von 30 min in einer Ausbeute von 71%. Dadurch, dass die Darstellung der Azoline im letzten Schritt erfolgte, konnte die Epimerisierung der direkt mit diesen Heterozyklen verknüpften stereogenen Zentren unterdrückt werden.^[136]

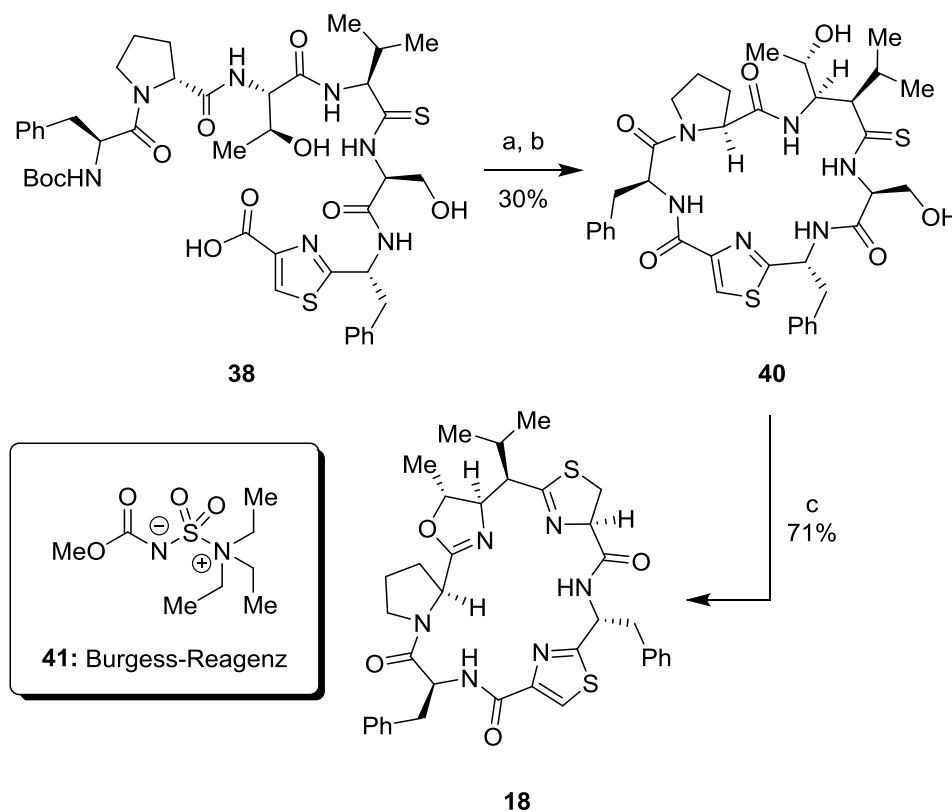


Abbildung 2.8: Makrozyklisierung und finale Dizyklodehydratisierung zu Lissoclinamid 4 (**18**). Bedingungen: a) 20 Vol.-% TFA, CH₂Cl₂; b) NMM, DPPA, DMF, 25 °C, 48 h; c) **41**, THF, 65 °C, 30 min.

Eine Totalsynthese von Telomestatin (**23**) wurde 2006 von Doi *et al.* publiziert.^[95] Als Synthesebausteine wurden dabei das 5-Methyl-Oxazol **42**, das über Parikh-Doering-Oxidation und anschließende Zyklodehydratisierung mit PPh₃ und I₂ erhalten wurde sowie die Oxazole **42-43** verwendet (Abbildung 2.9). Diese wurden aus den entsprechenden, mit Burgess-Reagenz (**41**) oder DAST (**46**) zyklisierten und anschließend mit DBU und BrCCl₃ oxidierten Dipeptiden aufgebaut.

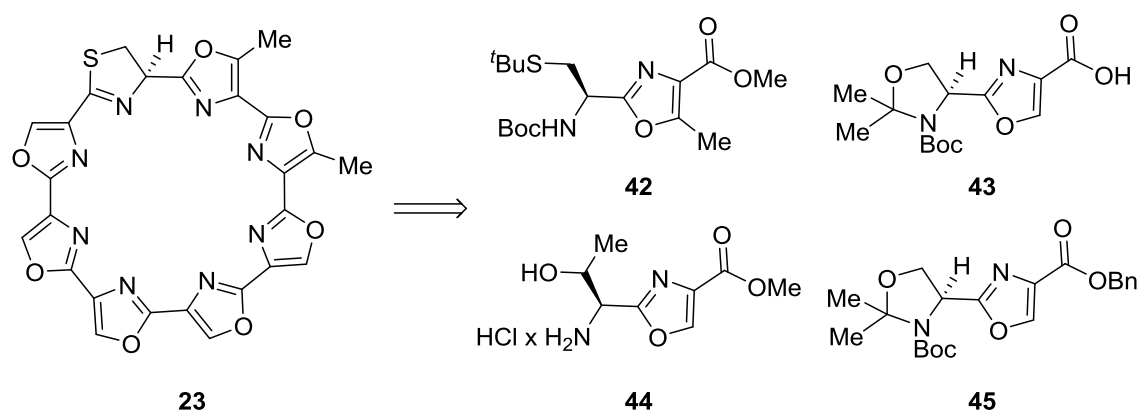


Abbildung 2.9: Telomestatin (**23**) und die zur Totalsynthese von Doi *et al.*^[95] verwendeten Oxazolbausteine **42**-**45**.

Die so erhaltenen Oxazolbausteine **42** und **44**, bzw. **43** und **45** wurden im nächsten Schritt in die entsprechenden Trisoxazole **47** und **48** überführt (Abbildung 2.10).

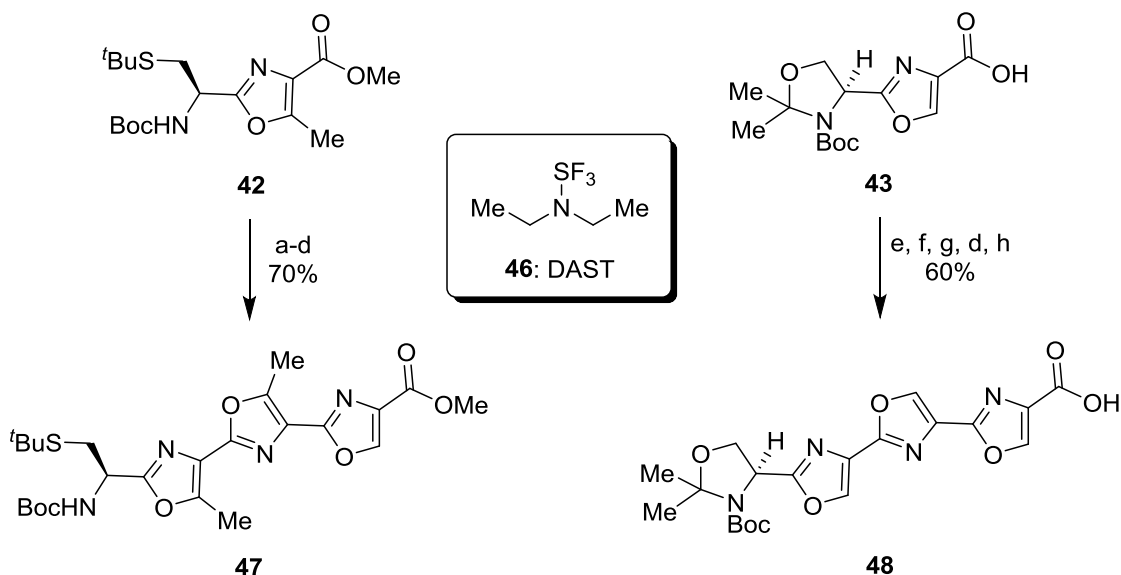


Abbildung 2.10: Darstellung der Trisoxazole **47** und **48** aus den Oxazolbausteinen **42** und **43**. Bedingungen: a) MeOH, THF, H₂O, LiOH, RT; b) **44**, PyBrop, EtNiPr₂, CH₂Cl₂, RT, 1.5 h; c) Burgess-Reagenz, THF, 70 °C, 8 h; d) BrCCl₃, DBU, CH₂Cl₂, RT, 8 h; e) 4 M HCl, 1,4-Dioxan, RT, 1 h; f) **45**, PyBrop, EtNiPr₂, CH₂Cl₂, RT, 1.5 h; g) DAST, CH₂Cl₂, -78 °C, 1 h; h) H₂, Pd/C, EtOAc, MeOH, RT, 1.5 h.

Nach Boc-Entschützung des Trisoxazols **47** wurde dieses mit Carbonsäure **48** zu Hexaazol **49** verknüpft. Durch Acetalspaltung und anschließende Verseifung des Methylesters (Abbildung 2.11), konnte der entschützte Zyklisierungsvorläufer erhalten werden, welcher mit einer Ausbeute von 48% zu Makrozyklus **50** umgesetzt werden konnte. Das letzte Oxazol war nicht über die Standardmethoden (DAST oder Burgess-Reagenz) zugänglich, daher wurde zunächst das entsprechende Dehydroamid **51**, analog der Methode von Shin^[137] hergestellt, um daraus das 4-Methoxyoxazolinderivat **52** erhalten zu können,

welches nach Eliminierung in das Heptaoxazol **23** überführt wurde. Die Darstellung des Thiazolins wurde nach einer modifizierten Variante von Kelly^[138] durchgeführt, wodurch Telomestatin (**23**) mit einer isolierten Ausbeute von 20% erhalten werden konnte.

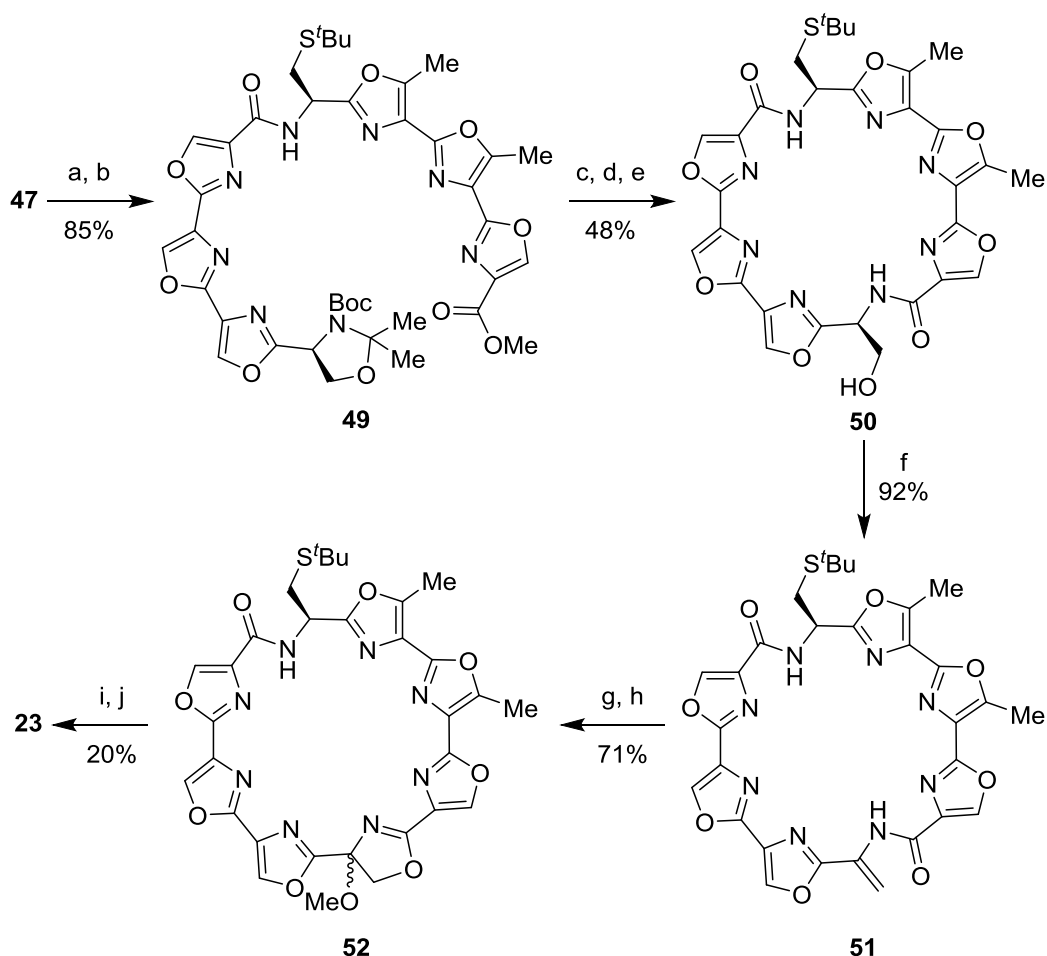


Abbildung 2.11: Makrozyklisierung und Totalsynthese von Telomestatin (**23**). Bedingungen: a) 4 M HCl, 1,4-Dioxan, RT, 1 h; b) **48**, PyBroP, EtNiPr₂, CH₂Cl₂, DMF, RT, 1.5 h; c) 4 M HCl, 1,4-Dioxan, RT, 1.5 h; d) LiOH x H₂O, MeOH/THF/H₂O (3:3:1, v/v/v), RT, 1.5 h; e) DPPA, HOBT, EtNiPr₂, DMAP, DMF, CH₂Cl₂, 3 mM, RT, 3 d; f) MsCl, DBU, CH₂Cl₂, 0 °C, 1 h; g) NBS, MS 4 Å, CH₂Cl₂, MeOH, 0 °C, 1 h; h) K₂CO₃, 1,4-Dioxan, 60 °C, 6 h; i) Camphersulfonsäure, Toluol, MS 5 Å, 70 °C, 14 h; j) Ph₃P(O), Tf₂O, Anisol, CH₂Cl₂, RT, 3.5 h.

Die erste und bisher einzige Totalsynthese von Urukthapelstatin A (**12**) wurde 2013 von der Arbeitsgruppe McAlpine veröffentlicht.^[139] Ebenfalls von dieser Gruppe stammen zwei Ansätze zur Totalsynthese dieses Naturstoffes^[140,141] die hier ebenfalls kurz diskutiert werden sollen.

Bei dem ersten Ansatz zur Darstellung von Urukthapelstatin A (**12**), der 2012 veröffentlicht wurde,^[141] sollte der Naturstoff aus den Fragmenten I-III (**53-55**) (Abbildung 2.12) synthetisiert werden. Die Darstellung der Thiazole erfolgte dabei über Hantz-

sche Thiazolsynthese, während die Oxazole aus den entsprechenden Amiden über DAST (**46**) und anschließende Oxidation mit DBU und BrCCl_3 erhalten wurden.

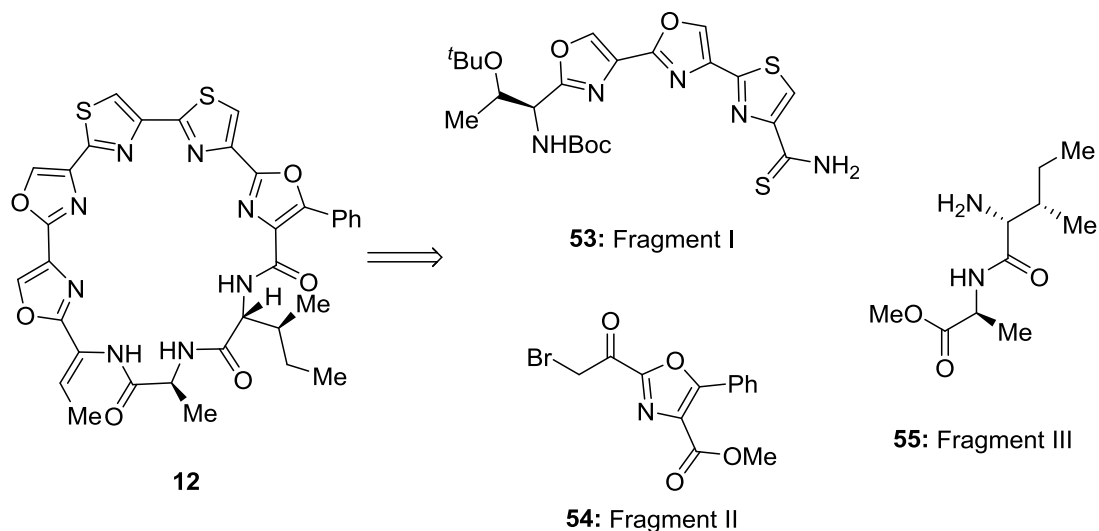


Abbildung 2.12: Retrosynthese zum ersten Ansatz der Darstellung von Urukthapelstatin A (**12**) aus den Fragmenten I-II.

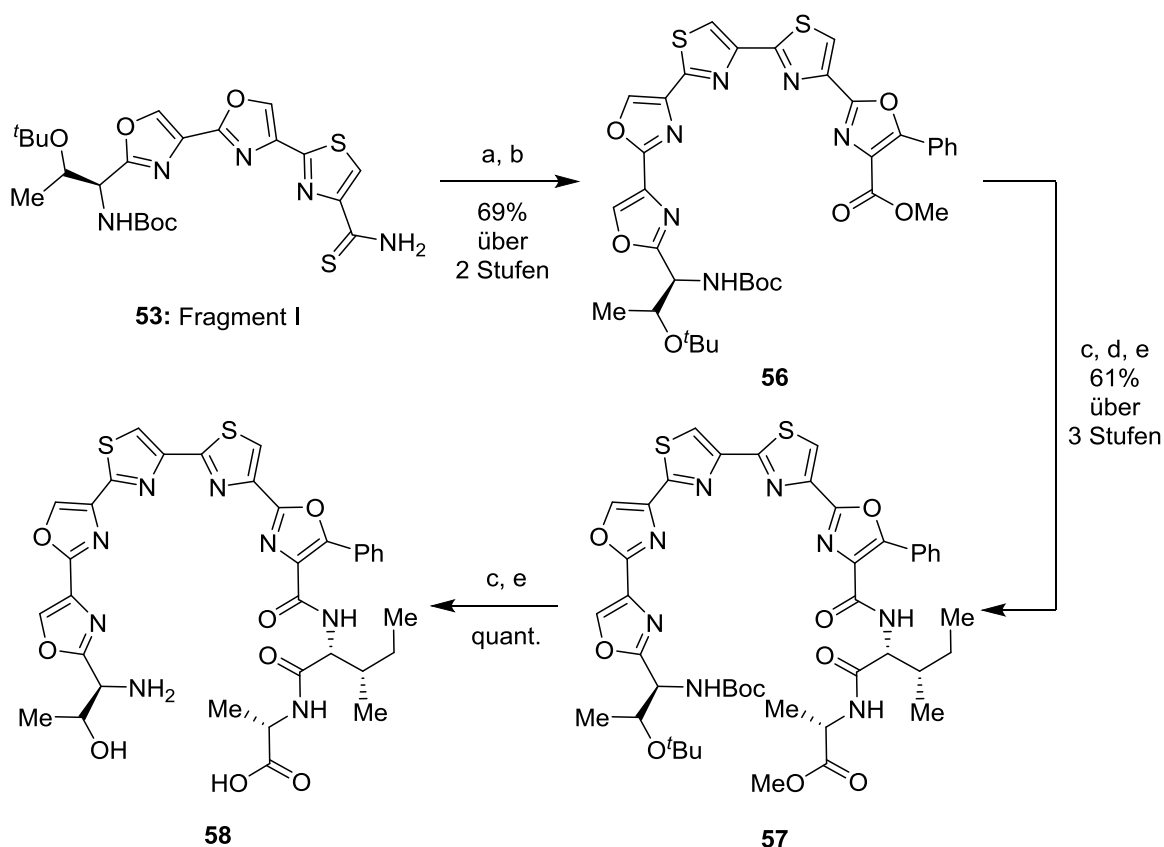


Abbildung 2.13: Verknüpfung der Fragmente I-III (**53-55**) zum vollständig entschützten Makrozyklisierungsvorläufer **58**. Bedingungen: a) **54**, KHCO_3 , 1,2-Dimethoxyethan; b) TFAA, Pyridin, 1,2-Dimethoxyethan, 0°C , 3 h, dann NEt_3 , RT, 3 h; c) LiOH , MeOH ; d) **55**, TBTU, EtNiPr_2 , CH_2Cl_2 ; e) TFA, CH_2Cl_2 , Anisol.

Der Aufbau des linearen Vorläufers **57** erfolgte wie in Abbildung 2.13 dargestellt. Nach Abspaltung der Schutzgruppen wurden verschiedene Bedingungen untersucht, die jedoch nicht zur Makrozyklisierung der ω -Aminosäure **58** führten. Diese wurden allerdings erst in einer späteren, zweiten Publikation veröffentlicht.^[140] Als Erklärung führen die Autoren an, dass die starre Pentaazol-Einheit des Aminoalkohols **58** eine Makrozyklisierung aufgrund der zu geringen Flexibilität unterbinden würde.

Für den zweiten Ansatz wurde das peptidische Grundgerüst **60** über Festphasensynthese hergestellt, der anschließende Ringschluss zu Lactam **61** erfolgte mit HATU, TBTU, COMU, DMTMM und Et₃NiPr₂ in CH₂Cl₂ mit einer Ausbeute von 36% (Abbildung 2.14).

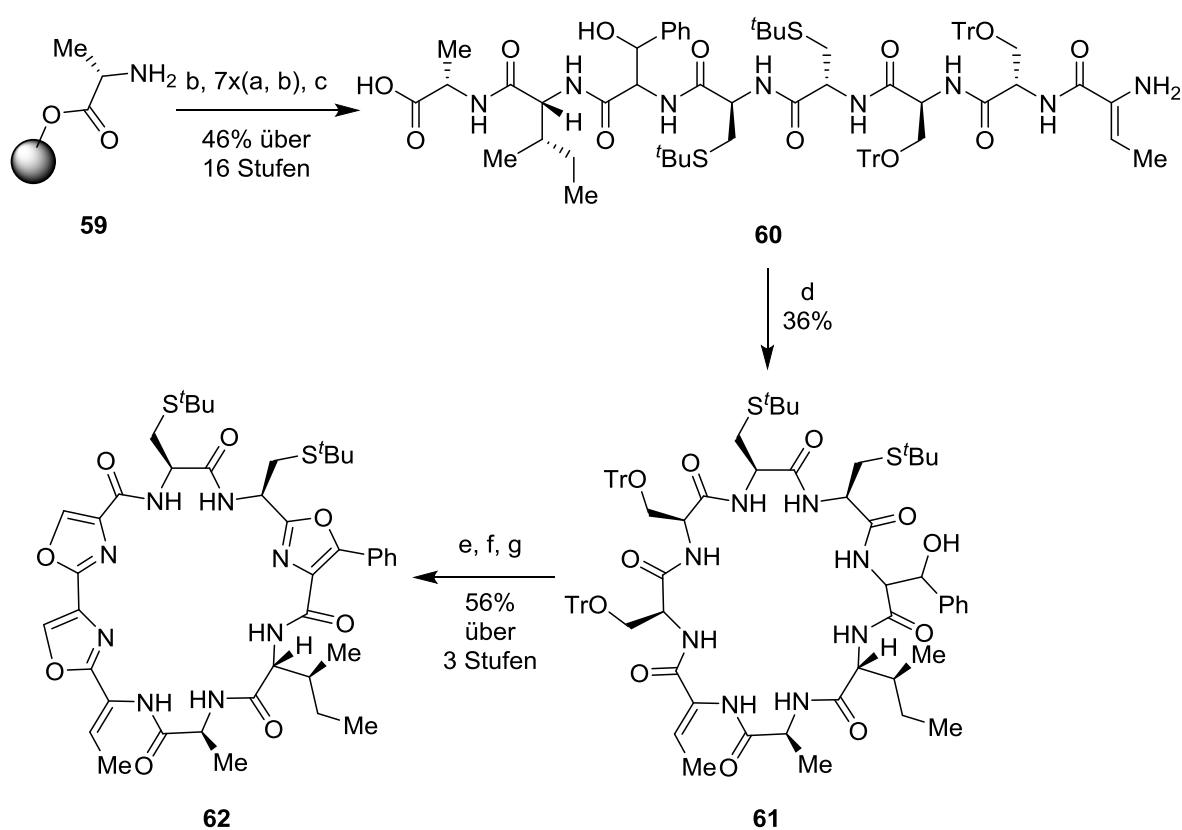


Abbildung 2.14: Festphasensynthese, Makrozyklisierung und Trisoxazolbildung eines Syntheseversuches von Urukthapelstatin A (**12**). Bedingungen: a) Fmoc-Xaa-OH, HOBt, DIC, DMF; b) 20 Vol.-% Piperidin in DMF; c) TFE/CH₂Cl₂ (1:1, v/v); d) HATU, TBTU, COMU, DMTMM, Et₃NiPr₂, CH₂Cl₂; e) Et₃SiH/CH₂Cl₂ (1:1, v/v), 1.1 Vol.-% TFA in CH₂Cl₂; f) DAST, Pyridin, K₂CO₃, CH₂Cl₂, -70 °C; g) DBU, BrCCl₃, CH₂Cl₂, -40 °C.

Eine selektive Entschützung der Serine in Anwesenheit der *t*Butyl-geschützten Cysteine gelang mit Triethylsilan/CH₂Cl₂ (1:1, v/v) und 1.1 Vol.-% TFA. Analog zu früheren Arbeiten wurde Trisoxazol **62** über Zyklodehydratisierung mit DAST (**46**) und anschließender Oxidation mit DBU und BrCCl₃ erhalten. Versuche zur weiteren Umsetzung zu Urukthapelstatin A (**12**) wurden nicht berichtet.

In der ebenfalls 2013 veröffentlichten Totalsynthese wurde Urukthapelstatin A (**12**) ausgehend von Trisazolcarbonsäure **63** sowie Oxazolamin **64** dargestellt (Abbildung 2.15). Die verwendeten Methoden zur Synthese der einzelnen Azole wurden von dem 2012 publizierten Syntheseansatz adaptiert.^[141] Das Z-Enamid wurde selektiv über Mesylierung des Alkohols mit MsCl, NEt₃ und anschließende Eliminierung mit DBU erhalten (*Z/E* > 95:5).

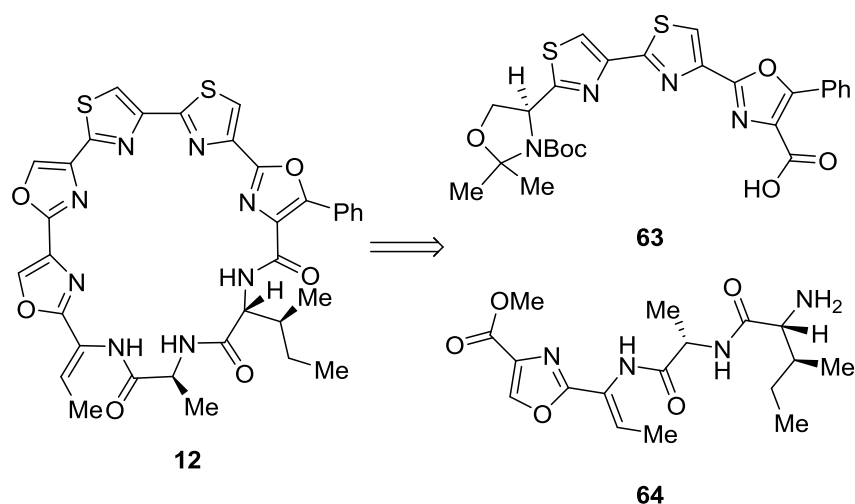


Abbildung 2.15: Retrosynthetische Zerlegung von Urukthapelstatin A (**12**) in die zwei Hauptfragmente Trisazol **63** und Oxazol **64**.

Die Carbonsäure **63** wurde, wie in Abbildung 2.16 gezeigt, mit Amin **64**, HATU, DMTMM, PyBroP und EtNiPr₂ in CH₂Cl₂ in einer Ausbeute von 83% in das Tetraazol **65** überführt. Nach Boc- und Acetalspaltung sowie Verseifung des Methylesters wurde der Makrozyklus **66** nach Umsetzung mit HATU, DMTMM, T3P und EtNiPr₂ in CH₂Cl₂ und DMF mit einer Ausbeute von 25% erhalten. Über DAST vermittelte Zyklodehydratisierung und anschließende Oxidation mit DBU und BrCCl₃ konnte Urukthapelstatin A (**12**) mit einer Ausbeute von 15% dargestellt werden. Auf der letzten Stufe trat jedoch eine Isomerisierung der Doppelbindung ein (*Z/E* = 2:1). Die entstandenen Isomere konnten nicht voneinander getrennt werden.^[139]

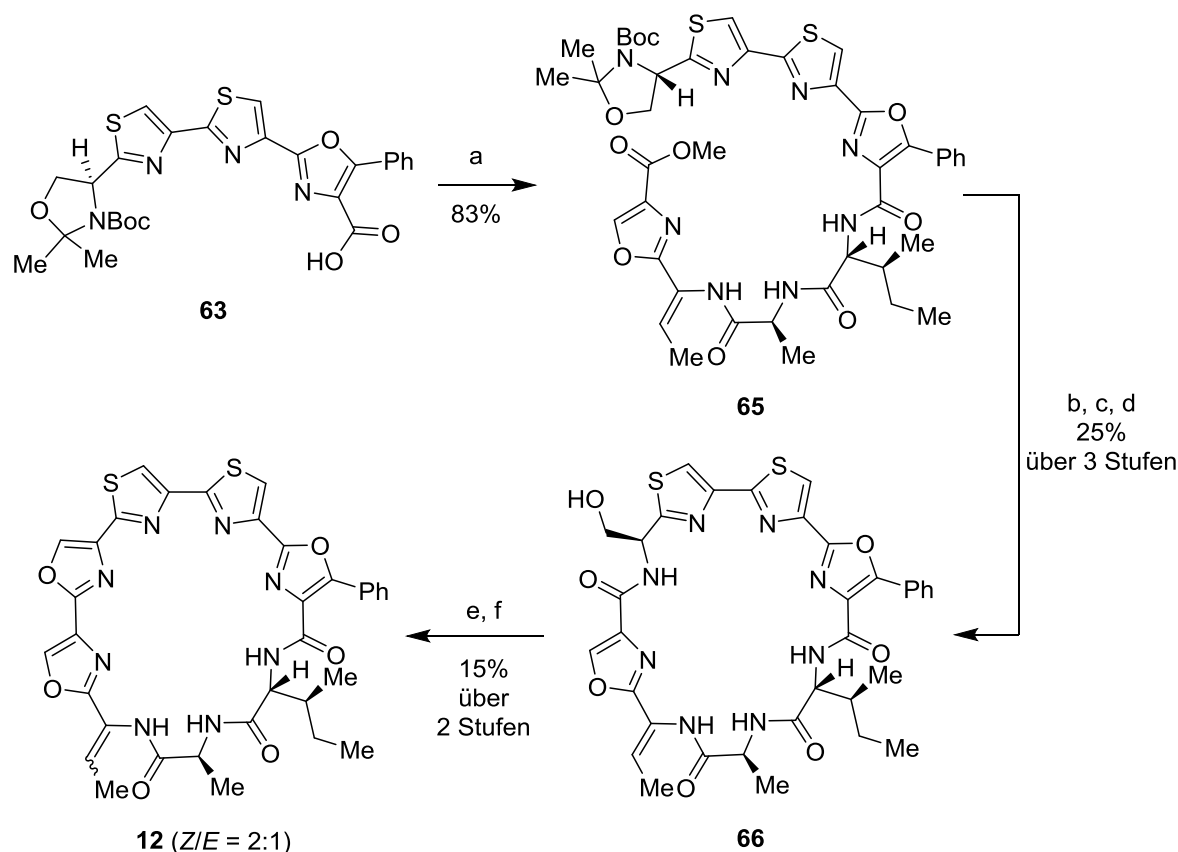


Abbildung 2.16: Verknüpfung der Fragmente **63** und **64** sowie Makrozyklisierung und Darstellung von Uruk-hapelstatin A (**12**). Bedingungen: a) **64**, HATU, DMTMM, PyBroP, EtNiPr₂, CH₂Cl₂; b) LiOH, MeOH; c) 4 M HCl, 1,4-Dioxan; d) HATU, DMTMM, T3P, EtNiPr₂, CH₂Cl₂, DMF; e) DAST, CH₂Cl₂, THF, -78 °C, dann Pyridin, -78 °C nach RT; f) DBU, BrCCl₃, CH₂Cl₂, -78 °C nach RT.

2.3 Problemanalyse

Der in Abbildung 2.6 dargestellte Sekundärmetabolit Mechercharmycin B (**32**) zeigte, trotz der zu Mechercharstatin A (**14**) verwandten Struktur bisher keine biologische Aktivität.^[99] Dies legt die Vermutung nahe, dass sowohl das Pentaazol, als auch die makrozyklische Form essentiell für die biologische Wirkung sein können.

Zur Darstellung der makrozyklischen Grundstruktur dieser Stoffklasse wurden bereits verschiedene Bedingungen und Verknüpfungsstellen untersucht (Abbildungen 2.13, 2.14, 2.16 und 2.17).

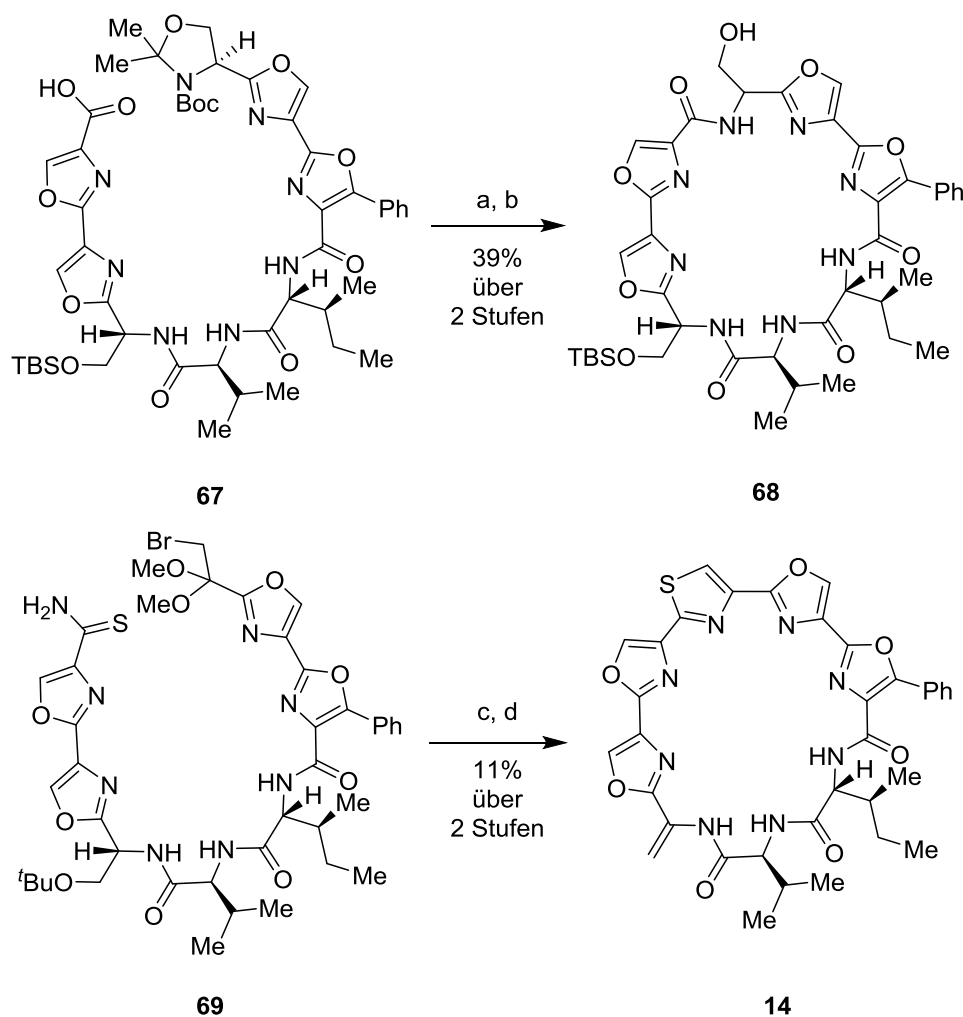


Abbildung 2.17: Darstellung der makrozyklischen Grundstruktur von Mechercharstatin A (**14**) nach Chattopadhyay *et al.* (oben)^[142] und Hernández *et al.* (unten)^[113]. Bedingungen: a) TFA/CH₂Cl₂ (1:1, v/v), 0 °C nach RT, 1.5 h; b) DPPA, HOBT, Et₃NiPr₂, DMAP, DMF, CH₂Cl₂, RT, 36 h; c) HCOOH, Rückfluss; d) NaHCO₃, CH₂Cl₂, RT, dann TFAA, 2,6-Lutidin, 0 °C nach RT.

Problematisch dabei ist, dass der Freiheitsgrad des zu zyklisierenden Moleküls nicht zu groß, wie bei dem Beispiel in Abbildung 2.14, wie auch nicht zu gering bemessen sein darf, wie an dem Makrozyklisierungsversuch aus Abbildung 2.13 zu sehen ist. In der 2005 von Deeley *et al.* publizierten Synthese von YM-216391^[143] konnte das Lactam **71** mit einer Ausbeute von 88% erhalten werden (Abbildung 2.18), die anschließende Darstellung des Thiazolins über DAST und Oxidation mit MnO₂ erfolgte jedoch mit einer geringen Ausbeute von 24% über 2 Stufen.

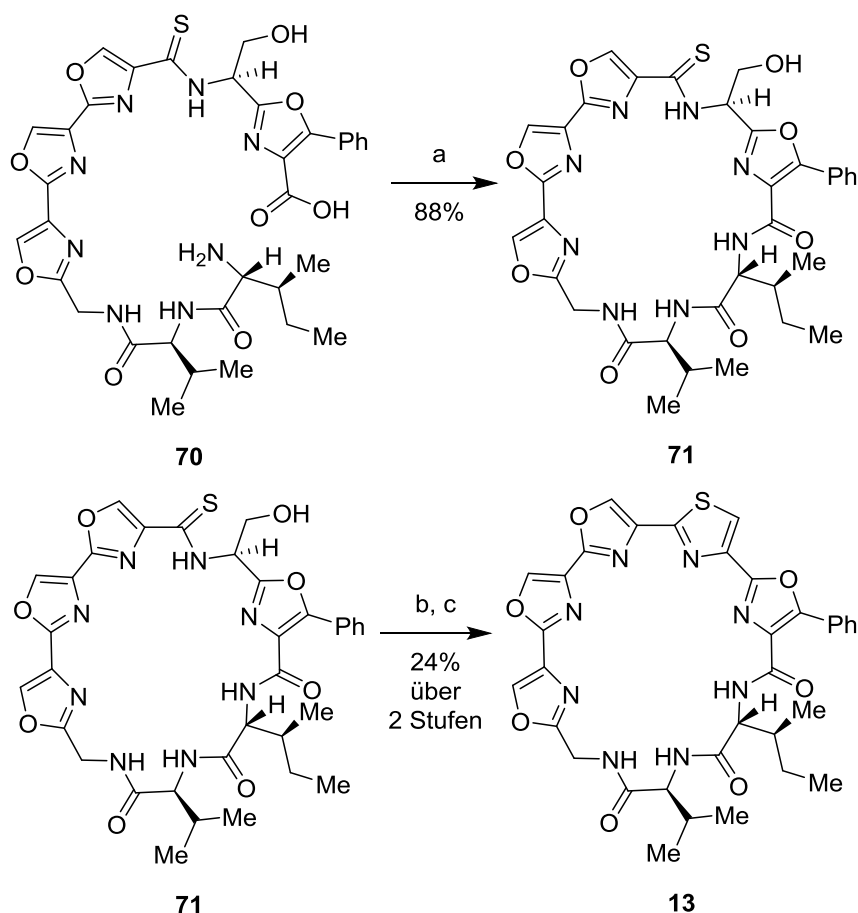


Abbildung 2.18: Totalsynthese von YM-216391 (**13**) von Deeley *et al.*^[143] Bedingungen: a) HATU, NMM, CH₂Cl₂, DMF, 0 °C nach RT, 72 h; b) DAST, CH₂Cl₂, -78 °C, 2 h; c) MnO₂, CH₂Cl₂, RT, 48 h.

Durch den Ringschluss zwischen dem *N*-Terminus des Peptids und der Carbonsäure am 5-Phenyl-Oxazol sowie dem noch nicht ausgebildeten letzten Thiazol der ω -Aminosäure **70**, konnte hier der Makrozyklus mit einer guten Ausbeute erhalten werden. Bei einem ähnlichen Versuch zur Makrozyklisierung der ω -Aminosäure **58** (Abbildung 2.13), bei der der Ringschluss zwischen dem Amin des Threoninrestes und der Carbonsäure des Valins erfolgen sollte, konnte hingegen kein Umsatz beobachtet werden.^[144]

Eine weitere Möglichkeit den Freiheitsgrad des Makrozyklus, bzw. dessen Ringspannung zu variieren basiert auf den Bindungswinkeln (α), bzw. Öffnungswinkeln (β) der 2,4'-substituierten Oxazole und Thiazole (Abbildung 2.19).

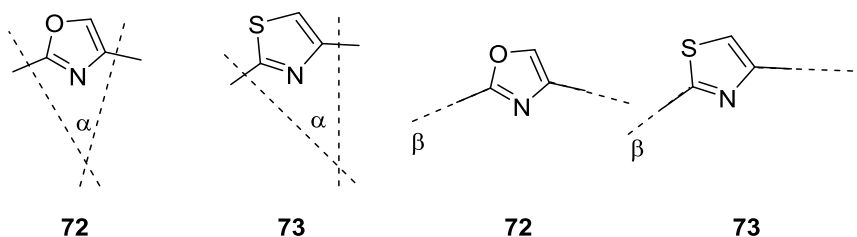


Abbildung 2.19: Schematische Darstellung der Bindungswinkel (α), bzw. Öffnungswinkel (β) von 2,4'-substituierten Oxazolen **72**, bzw. Thiazolen **73**.

Anhand von Messungen in der Gasphase konnten die Öffnungswinkel von 2,4'-substituierten Oxazolen **72**, $\beta = 146^\circ$ ^[145] sowie der entsprechenden Thiazole **73**, $\beta = 134^\circ$ ^[146] berechnet werden. Die hier dargestellten Bindungswinkel $\alpha_{\text{Oxazol}} = 35^\circ$ und $\alpha_{\text{Thiazol}} = 49^\circ$ wurden aus DFT-Optimierungen erhalten und über Kristallisation der entsprechenden Diphenylderivate bestätigt.^[147] Aus diesen beiden Winkeln und grundlegenden geometrischen Überlegungen kann abgeleitet werden, dass ein aus 2,4'-verknüpften Oxazolen bestehender planarer Makrozyklus mindestens aus zehn Einheiten und ein aus entsprechenden Thiazolen aufgebauter Ring aus sieben Einheiten aufgebaut sein muss, um keine Ringspannung aufzuzeigen.

Diese Überlegungen und die damit verbundene Anpassung der Flexibilität des entstehenden Makrozyklus wurde von Seyfried *et al.*^[147] bei der Synthese des vollkommen planaren Telomestatin Analogons **79** bestätigt (Abbildung 2.20), die parallel zu dieser Arbeit stattfand.

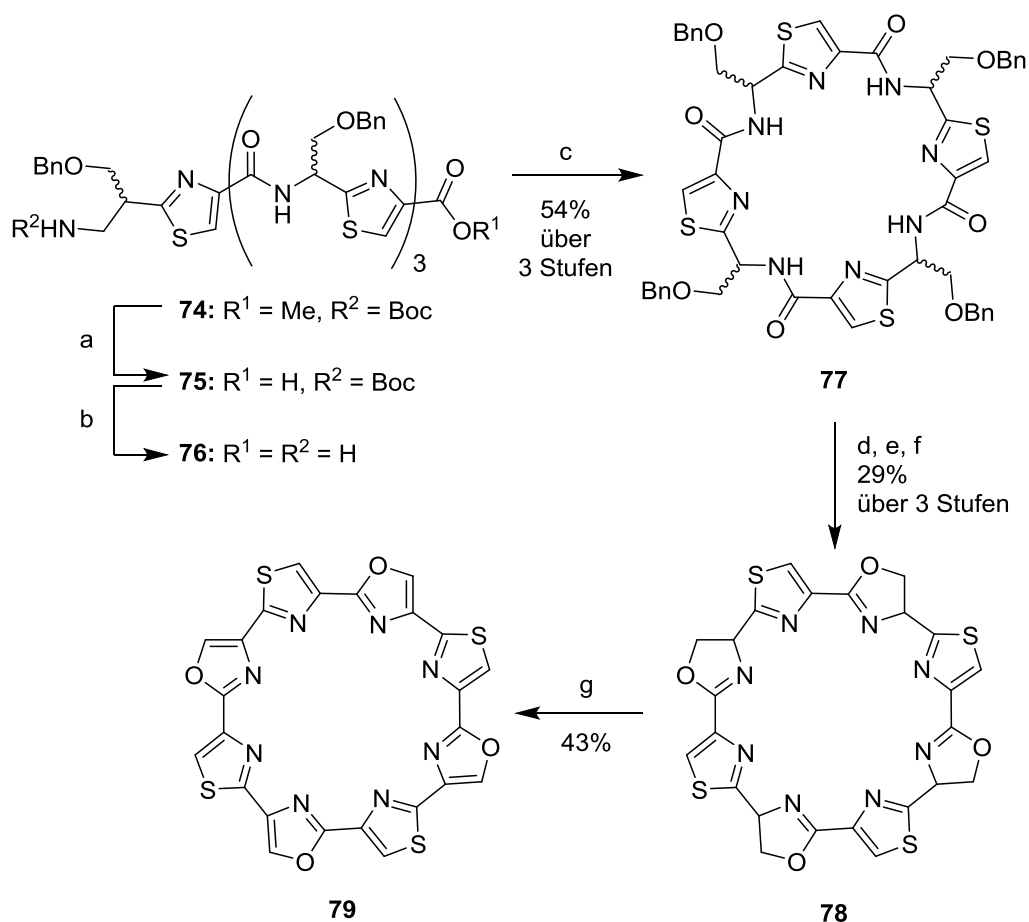
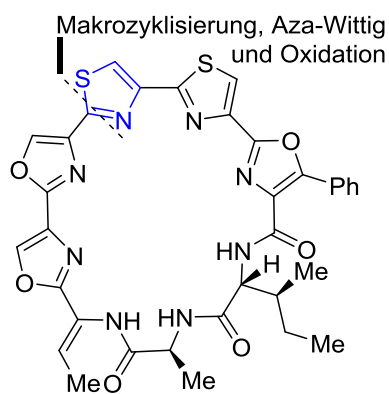


Abbildung 2.20: Darstellung des planaren Telomestatin Analogons **79** aus dem linearen Tetrathiazol **76**. Bedingungen: a) LiOH, MeOH/H₂O (1:3, v/v), NaHSO₄, RT; b) TFA/CH₂Cl₂ (1:1, v/v), Amberlyst (Cl⁻), RT; c) Py-BOP, NMM, DMF, 30 h; d) BF₃ x OEt₂, CH₂Cl₂/Ac₂O (1:1, v/v), RT, 16 h; e) LiOH, MeCN/MeOH/H₂O (1:1:1, v/v/v), 45 °C, 8 min; f) DAST, CH₂Cl₂, RT, 24 h; g) DBU, BrCCl₃, DMF, 0 °C nach RT, 16 h.

Nach Verseifung des Methylesters und Spaltung des Carbamats konnte Makrozyklus **77** aufgrund der geringen Ringspannung durch die Amidoethylalkoholfunktionen sowie die durch die vier Thiazole induzierte Rigidität in guter Ausbeute erhalten werden. Auch die Zyklisierung und Oxidation zum Aufbau des Oktaazols **79** wurde durch die reduzierte Ringspannung ermöglicht.

3 Zielsetzung der Arbeit

Die Klasse der YM-216391-TOMMs (Abbildung 1.6) stellt eine interessante Familie an biologisch aktiven Sekundärmetaboliten dar, deren charakteristische fünf direkt miteinander verknüpfte 2,4'-Azole sowie die makrozyklische Grundgerüst eine starke zytostatische Aktivität zu induzieren scheinen. In der Tat zeigen die Vertreter dieser Familie eine wachstumshemmende Wirkung auf Krebszelllinien mit IC_{50} -Werten im nanomolaren Bereich, wobei der genaue Wirkmechanismus bisher nicht hinreichend untersucht wurde.^[98-100] Zur Bestimmung der Struktur-Aktivitäts-Beziehung und um ein besseres pharmakologisches Verständnis der Wirkung dieser Naturstoffe zu erhalten, sollte ein breit nutzbarer Syntheszugang entwickelt werden (Kapitel 2.2.1). Die Synthesestrategie sollte dabei an Urukthapelstatin A (**12**) (Abbildung 3.1) etabliert werden, da dieses die mit durchschnittlich 12 nM geringste IC_{50} gegen die untersuchten Krebszellen zeigte und durch die isomerisierbare Enamideinheit^[139] eine zusätzliche Stufe der Komplexität aufwies (siehe auch Kapitel 2.2.3). Der Aufbau des Tripeptids sollte dabei an der festen Phase erfolgen und die Azole in biomimetischer Weise aus natürlichen Aminosäuren hergestellt werden. Im ersten Schlüsselschritt dieser Synthese sollte die Makrozyklisierung am zentralen Thiazol (blau) erfolgen. Darüber hinaus sollten die Thiazoleinheiten des Pentaazolgerüsts über Aza-Wittig-Reaktionen aufgebaut werden.



12: Urukthapelstatin A

Abbildung 3.1: Der effizienteste Vertreter der Stoffklasse der YM-216391-Familie und Syntheseziel dieser Arbeit.

4 Stereoselektive Totalsynthese von Urukthapelstatin A

4.1 Retrosynthetische Planung

Für die erfolgreiche stereoselektive Totalsynthese von Urukthapelstatin A (**12**) (Abbildung 4.1) sollte die Darstellung des Enamids im letzten Schritt aus dem geschützten Alkohol **80** erfolgen. Dadurch sollte die in der Literatur beschriebene Isomerisierung kontrolliert werden.^[139] Das entsprechende Pentaazol **80** könnte über Aza-Wittig-Reaktion und anschließende Oxidation aus dem Thiolacton **82** hergestellt werden. Durch Darstellung des Biazolins **81** mittels einer Aza-Wittig-Reaktion würde der makrozyklische Vorläufer **82** über zwei zusätzliche sp^3 -Kohlenstoffe verfügen (rote Markierungen, Abbildung 4.1), was die Ringspannung reduzieren sollte. Des Weiteren sollte die Bildung der beiden Azoline im Makrozyklus über die Triebkräfte der Aza-Wittig-Reaktion, der Freisetzung von zwei Molekülen N_2 sowie die Oxophilie des beteiligten Phosphins, gegenüber der Zyklodehydratisierung mit DAST (**46**) oder Burgess-Reagenz (**41**) begünstigt sein. Durch das Wechselspiel der Flexibilität des peptidischen Rückrats und der beiden zusätzlichen sp^3 -Kohlenstoffe sowie der durch die Heterozyklen induzierten strukturgebenden Rigidität sollte die Makrozyklisierung effizient durchführbar sein. Der Makrozyklus **82** könnte aus dem linearen geschützten Vorläufer **83** erhalten werden. Dieser könnte über Amidknüpfung und Veresterung aus Oxazol **84**, Biazol **85** sowie dem an der festen Phase gebundenen Tripeptid **86** erhalten werden. In vorangegangenen Studien innerhalb der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass die Darstellung des 5-Ph-Oxazols **85** zu einem späteren Zeitpunkt und unter den untersuchten Bedingungen nicht erfolgreich war, weshalb dieses Strukturelement bereits auf der Ebene der Synthesebausteine eingeführt werden sollte. Die Methoden zur Darstellung des Oxazols **84** sowie des Thiazols im Biazol **85** konnten ebenfalls aus früheren Arbeiten übernommen werden.

Durch die Synthese des Peptidrückrates an der festen Phase sollte ein schneller und effizienter Zugang zu Derivaten des Tripeptids ermöglicht werden. Ein weiterer Vorteil dieses Zuganges ist, dass lediglich α -Aminosäuren als Ausgangsmaterialien verwendet werden, wodurch die vorliegende Synthese als biomimetisch bezeichnet werden kann.

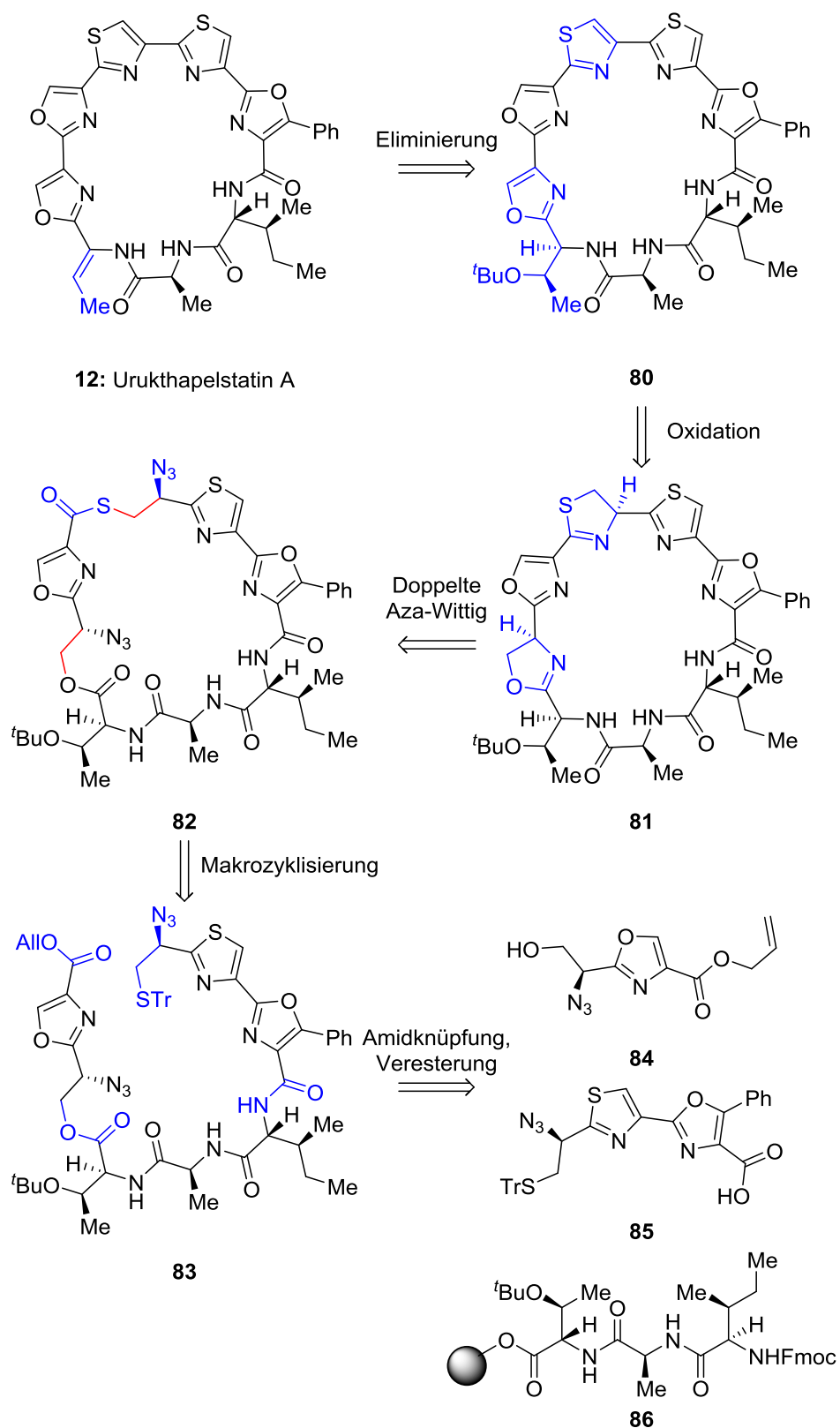


Abbildung 4.1: Retrosynthetische Zerlegung von Urukthapelstatin A (**12**) in Oxazol **84**, Biazol **85** und das an der festen Phase gebundenen Tripeptid **86**.

4.2 Darstellung der Azolbausteine

Das Oxazol **84** wurde aus zwei unterschiedlich geschützten Serin-, das Thiazol **95** aus zwei unterschiedlich geschützten Cysteinderivaten aufgebaut.

Für Oxazol **84** (Abbildung 4.2) wurde *L*-Serin, über eine von C. Ronco entwickelte Methode, mit Allylchlorid und SOCl_2 mit einer Ausbeute von 85% in Allylester **87** überführt und anschließend mit BocHN-Ser(TBS)-OH^[148] in Gegenwart von HOBt, EDC x HCl und NEt_3 zu Amid **88** umgesetzt (76% Ausbeute). Dieses wurde mit DAST und K_2CO_3 bei -78°C zyklodehydratisiert^[149] und im Folgenden mit DBU und BrCCl_3 bei -50°C mit einer Ausbeute von 68% über zwei Stufen in das Oxazol **89** überführt.^[127] Durch Spaltung der TBS- und Boc-Gruppe in wässriger TFA und anschließendem, optimiertem Azidtransfer^[150] konnte Azid **84** im letzten Schritt in guter Ausbeute dargestellt werden.

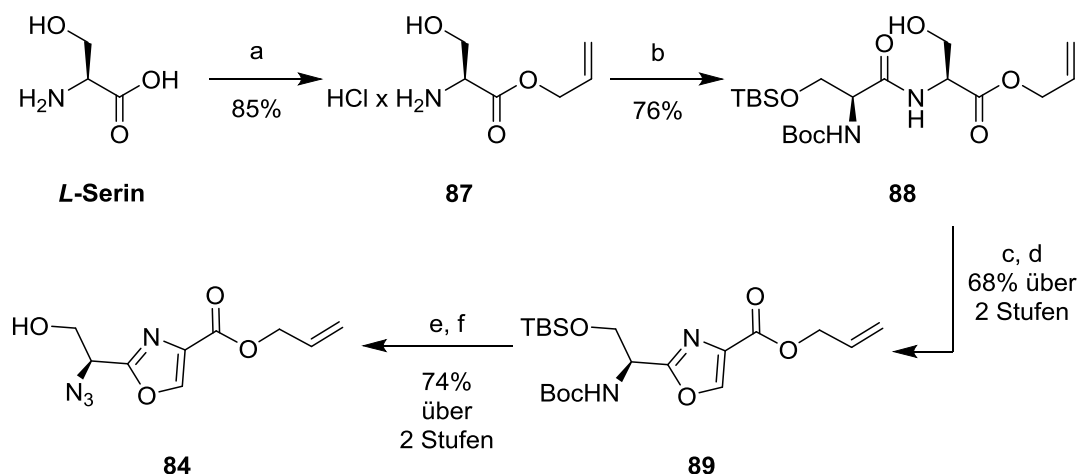


Abbildung 4.2: Darstellung von Oxazol **84**. Bedingungen: a) Allylkohol, SOCl_2 , 0°C nach 60°C , 8 h, dann RT, 12 h; b) BocHN-Ser(TBS)-OH, HOBt, EDC x HCl, NEt_3 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (52:1, v/v), 0°C nach RT, 19 h; c) DAST, K_2CO_3 , CH_2Cl_2 , -78°C nach -40°C , 3.5 h, dann RT, 15 min; d) DBU, BrCCl_3 , CH_2Cl_2 , -50°C nach RT, 3 h; e) TFA/ H_2O (10:1, v/v), RT, 14 h; f) TfN_3 , ZnSO_4 , NEt_3 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1.7:2:1, v/v/v), 0°C nach RT, 2 h.

Zur Darstellung von Thiazol **95** (Abbildung 4.3) wurde Cysteinhydrochlorid zunächst mit TrCl zum Thioether **90** umgesetzt.^[151] Nach anschließender Boc-Schützung der Aminogruppe wurde Carbamat **91** erhalten.^[152] Parallel dazu wurde in einem zweiten Ansatz Thioether **90** durch Veresterung der Carbonsäure mit SOCl_2 in MeOH und nachfolgendem Azidtransfer mit einer Gesamtausbeute von 73% in drei Stufen in das Azid **92**^[150,151] überführt.

Die Umsetzung zum entsprechenden Thiazolin erfolgte im nächsten Schritt, hierfür wurde der Tritylthioether von Azid **92** gespalten und das resultierende Thiol in einem Eintopf-Verfahren, analog der Methode von Loos *et al.*,^[150] mit Carbonsäure **91**, HOBt,

EDC x HCl, Et₃NiPr₂ und PPh₃ versetzt, um das entsprechende Thiazolin zu erhalten. Die Oxidation mit DBU und BrCCl₃ lieferte das Thiazol **93** in sehr guter Ausbeute (78% über drei Stufen). Die Umsetzung des Boc-geschützten Amins **93** zum Azid **94** erfolgte durch saure Spaltung des Carbamats und anschließenden Azidtransfer mit TfN₃.^[150] Die fast quantitative Umsetzung der Carbonsäure **95** aus dem Methylester **94** erfolgte in mit Trifluorethanol gepufferter, basischer Lösung.

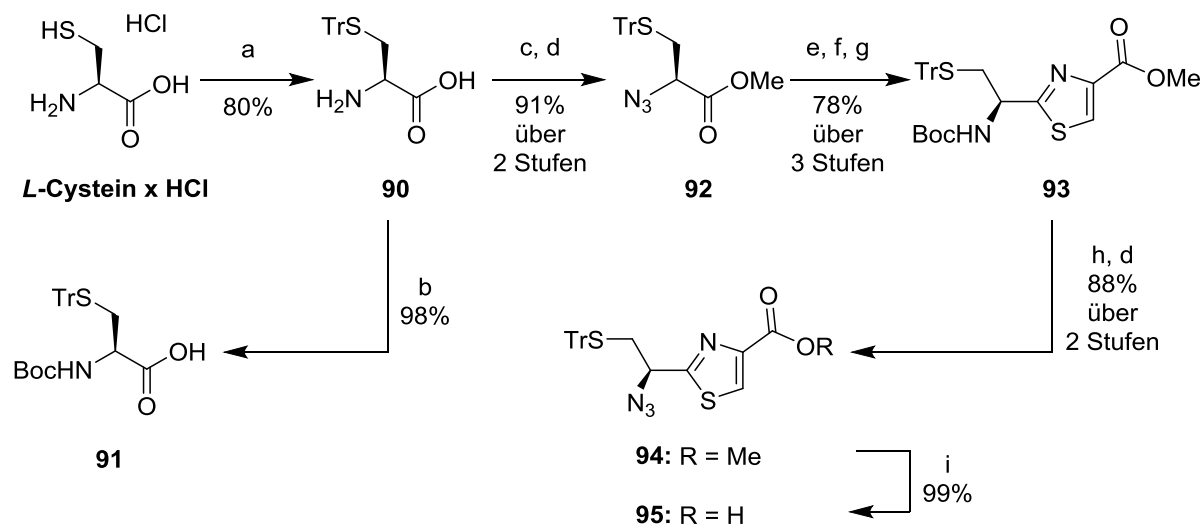


Abbildung 4.3: Darstellung von Thiazol **95**. Bedingungen: a) TrCl, DMF, RT, 48 h; b) Boc₂O, NEt₃, MeOH, 70 °C, 90 min; c) MeOH, SOCl₂, RT, 14 h, dann 70 °C, 8 h; d) TfN₃, ZnSO₄, NEt₃, CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (2:5:1, v/v/v), 0 °C nach RT, 2 h; e) TFA, Et₃SiH, CH₂Cl₂, RT, 1 h; f) **91**, HOBt, EDC x HCl, Et₃NiPr₂, CH₂Cl₂/DMF (9:1, v/v), -10 °C nach RT, 15 min, dann PPh₃, CH₂Cl₂/DMF (10:1, v/v), -10 °C nach RT, 15 h; g) DBU, BrCCl₃, CH₂Cl₂, -30 °C nach RT, 1.5 h; h) 4 M HCl in 1,4-Dioxan, RT, 20 h; i) 5 M NaOH in H₂O, CH₂Cl₂/MeOH/TFE (2:2:1, v/v/v), 0 °C nach RT, 3 d.

Für die Synthese der Bisazolcarbonsäure **85** wurde *DL*-3-Phenylserin (Abbildung 4.4) mit SOCl₂ in MeOH in das Methylester Hydrochlorid **96** und in Gegenwart von HBTU, Et₃NiPr₂ und Carbonsäure **95** in Amid **97** überführt (78% über zwei Stufen).

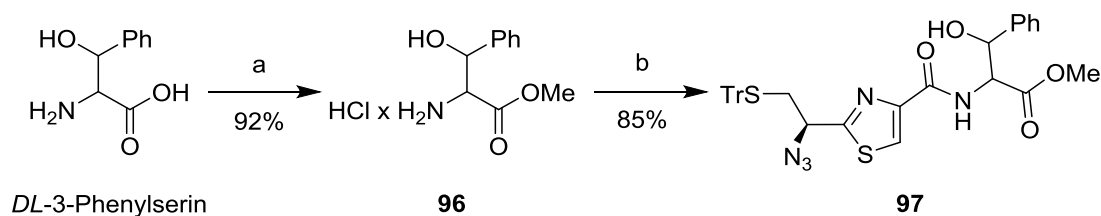


Abbildung 4.4: Synthese von Amid **97** aus *DL*-3-Phenylserin und Carbonsäure **95**. Bedingungen: a) SOCl₂, MeOH, 0 °C nach RT, 42 h; b) **95**, HBTU, Et₃NiPr₂, CH₂Cl₂/DMF (1:1, v/v), 0 °C nach RT, 3.5 h.

Die Zyklodehydratisierung zu Oxazolin **98** (Abbildung 4.5) erfolgte mit DAST und Pyridin in 50%iger Ausbeute (Tabelle 4.1, Eintrag 1). Zur Verbesserung der Ausbeute wurde zunächst die Menge an Äquivalenten von DAST und Pyridin reduziert, was zu einer wei-

teren Verringerung der Umsetzung führte (Tabelle 4.1, Eintrag 2). Anhand von HPLC-Messungen zeigte sich, dass der Anteil des Oxazolins **98** am Reaktionsgemisch bei 6% lag. Als Alternative zu DAST wurde die Darstellung von Oxazolin **98** unter Verwendung von Deoxo-Fluor[®] (**99**) untersucht.^[149] Gemäß der von Phillips *et al.* berichteten Ergebnisse eignet sich dieses Schwefeltrifluorid bevorzugt für die Synthese sterisch gehinderter Azoline. Tatsächlich konnte dies ebenfalls für die Bildung des Oxazolins **98** bestätigt werden, wobei nach Behandlung mit Deoxo-Fluor[®] eine 78%ige Umsetzung zum Zyklisierungsproduktes über HPLC detektiert wurde (Tabelle 4.1, Eintrag 3).

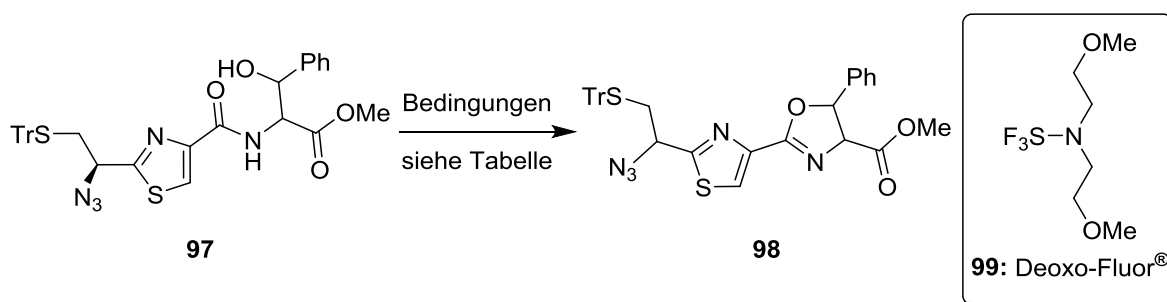


Abbildung 4.5: Zyklodehydratisierung von Amid **97** zu Oxazolin **98**. Die Bedingungen sind in den Tabellen 4.1 und 4.2 zusammengefasst.

Zur Optimierung der Transformation wurden in Zusammenarbeit mit M. Brensing verschiedene Bedingungen zur Darstellung des Oxazolins **98** aus Amid **97** untersucht (Tabelle 4.2). Der Fortschritt der Reaktionen wurde dabei über HPLC verfolgt (Abbildung 4.6).

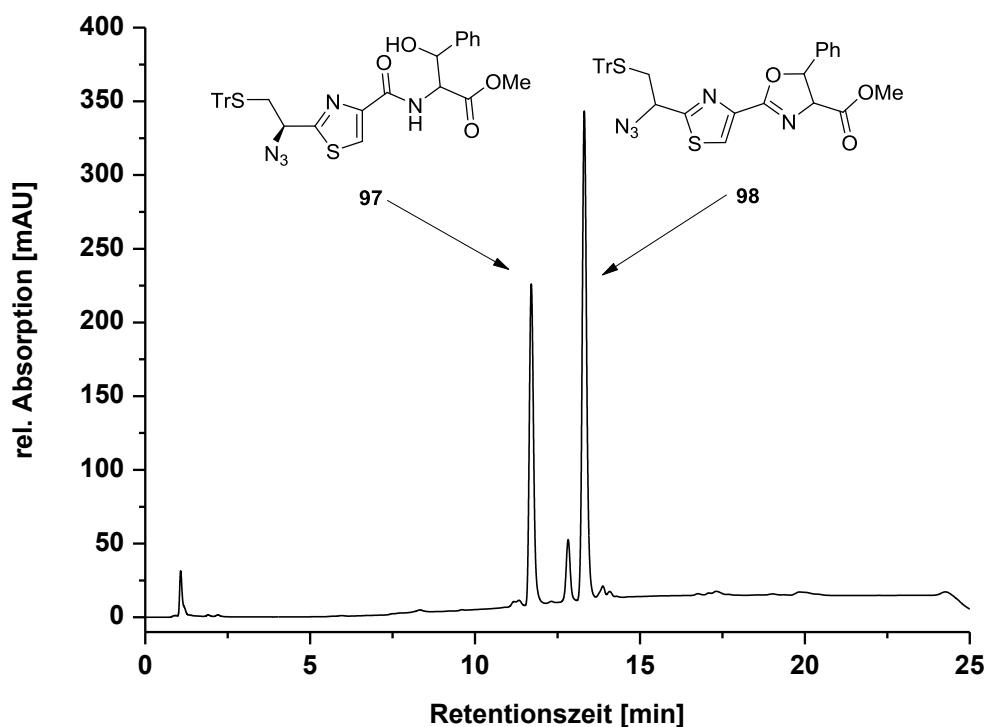


Abbildung 4.6: HPLC-Chromatogramm aus der Reaktionsmischung der Zyklisierung von Amid **97** ($t_R = 11.8$ min; 36%) zu Oxazolin **98** ($t_R = 13.3$ min; 57%) nach 20 h. Bedingungen: Tabelle 4.2, Eintrag 7.

Tabelle 4.1: Darstellung von Oxazolin **98** über Zyklodehydratisierung mit DAST oder Deoxo-Fluor[®]. a: in THF, b: in CH₂Cl₂, c: isolierte Ausbeute

Eintrag	Bedingungen (Äquiv.)	Temperatur	Zeit	Oxazolin 98 (HPLC)
1	DAST (3), Pyridin (3) ^a	−78 nach −50 °C	5 h	60%; 50% ^c
2	DAST (1.1), Pyridin (2) ^a	−78 °C nach RT	4 h	6%
3	Deoxo-Fluor [®] (1.2), Pyridin (2) ^b	−40 °C	20 h	78%

Ausgehend von den in Tabelle 4.1, Eintrag 3 aufgeführten Bedingungen, wurde die Darstellung von Oxazolin **98** aus Amid **97** in Gegenwart von 1.2 Äquiv. Deoxo-Fluor[®] und 2 Äquiv. Pyridin in verschiedenen Lösungsmitteln (Tabelle 4.2, Einträge 1-5) über 80 h und unter Verwendung unterschiedlicher Basen (Tabelle 4.2, Einträge 6-10) über 20 h mittels HPLC untersucht. Die Umsetzungen wurden jeweils bei −40 °C durchgeführt.

Tabelle 4.2: Darstellung von Oxazolin **98** über Zyklodehydratisierung mit Deoxo-Fluor[®] (1.2 Äquiv.) und Pyridin (2 Äquiv.) für 80 h bei –40 °C (Einträge 1-5); bzw. in CH₂Cl₂ und der angegebenen Base über 20 h bei –40 °C (Einträge 6-10). a: isolierte Ausbeute.

Eintrag	Lösungsmittel	Beobachtung (HPLC)	Eintrag	Base (Äquiv.)	Beobachtung (HPLC)
1	1,2-Dichlorethan	74% 98	6	2,6-Lutidin (2)	68% 98 11% 97
2	MeCN	65% 98	7	NMM (2)	57% 98 36% 97
3	DMF	23% 98 16% 97	8	DMAP (0.3)	55% 98 26% 97
4	THF	73%; 64% ^a 98	9	DBU (2)	Zersetzung
5	Toluol	72% 98	10	Et ₃ NiPr ₂ (2)	52% 98 34% 97

Die Umsetzung zum Oxazolin **98** durch Deoxo-Fluor[®] und Pyridin erfolgte in CH₂Cl₂, 1,2-Dichlorethan, THF und Toluol zu etwa 65-74% (Tabelle 4.2, Einträge 1, 2, 4 und 5). Bei der Reaktion in DMF (Eintrag 3) wurden im HPLC-Chromatogramm noch 16% des nicht umgesetzten β -Hydroxyamids **97** sowie 23% des Oxazolins **98** detektiert. Der Einfluss verschiedener Basen auf diese Reaktion wurde in CH₂Cl₂ (Tabelle 4.1, Eintrag 3 und Tabelle 4.2, Einträge 6-10) untersucht. Bei der Reaktion mit DBU (Tabelle 4.2, Eintrag 9) waren nach 20 h weder Amid **97** noch Oxazolin **98** detektierbar. Mit NMM (Eintrag 7), DMAP (Eintrag 8) oder Et₃NiPr₂ (Eintrag 10) konnte nach 20 h eine etwa 70%ige, bei 2,6-Lutidin (Eintrag 6) eine etwa 90%ige Umsetzung des Ausgangsmaterials beobachtet werden. Die besten Ergebnisse lieferten Ansätze mit Pyridin (Tabelle 4.1, Eintrag 3), wobei nach 20 h ein vollständiger Umsatz des Startmaterials erreicht werden konnte.^[153]

Der Einsatz von THF oder CH₂Cl₂ als Lösungsmittel hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Ausbeute. In Ansätzen bei welchen CH₂Cl₂ anstelle von THF als Lösungsmittel verwendet und die Reaktion bei –60 bis –40 °C durchgeführt wurde, war die Isolierung des Oxazolins **98** aufgrund ähnlich eluierender Nebenprodukte schwieriger (Abbildung 4.7), daher wurde die Zyklodehydratisierung in THF durchgeführt. Erfolgte das Erwärmen der Reaktionsmischung zu schnell, bzw. wurde das Reaktionsgemisch nicht säulenchromatographisch getrennt, konnte in der nachfolgenden Oxidation zu Biazol **100** kein Produkt isoliert, oder das Oxidationsprodukt nur in geringen Mengen erhalten werden. Wie anhand der optischen Aktivität des Oxazolins **98** und dem NMR-Spektrum des Makrothiolactons **120** (Kapitel 4.6) zu beobachten, erfolgte bei der Zyklisierung des Amids **97** eine Razemisierung des stereogenen Zentrums.

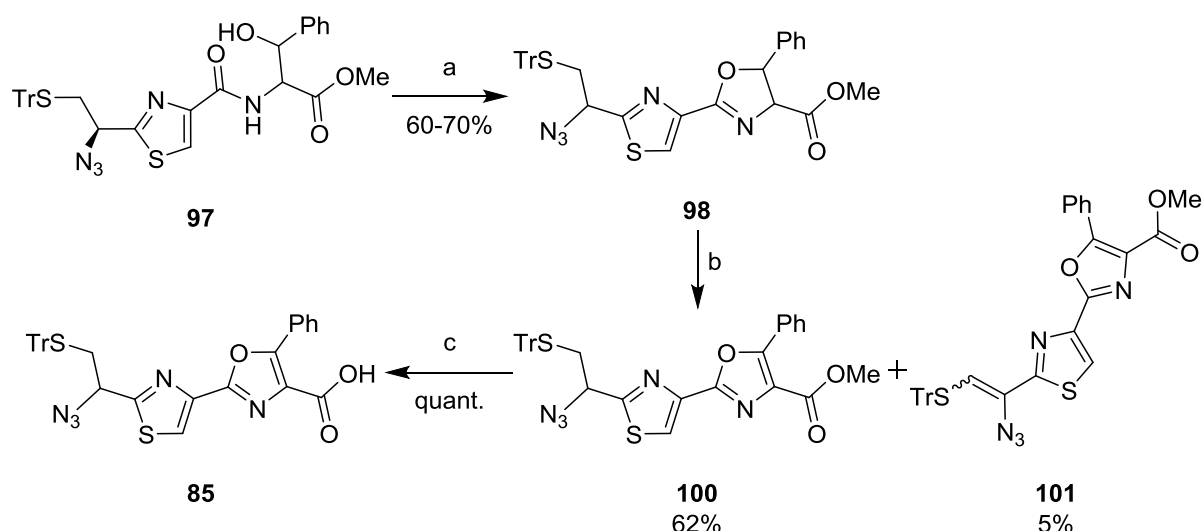


Abbildung 4.7: Synthese der Biazolcarbonsäure **85** ausgehend von Amid **97**. Bedingungen: a) Deoxo-Fluor[®], Pyridin, THF, -60 nach -40 °C, 3 h; b) DBU, BrCCl₃, CH₂Cl₂, -50 nach -25 °C, 28 h, c) Me₃SnOH, 1,2-Dichlorethan, 80 °C, 22 h.

Beim Einsatz eines Überschusses^[150,154] an DBU und BrCCl₃ in der anschließenden Oxidation, konnte neben dem nicht umgesetzten Oxazolin **98** das überoxidierte Olefin **101** isoliert werden. Durch Verwendung äquimolarer Mengen an DBU, BrCCl₃ und Oxazolin **98** wurde die Ausbeute an Biazol **100** auf 52% erhöht und die Menge an Ausgangsmaterial und Olefin **101** reduziert. Anhand verschiedener untersuchter Stöchiometrien der einzelnen Reaktionspartner zeigte sich, dass die Ausbeute wesentlich verbessert werden konnte, wenn die verwendete Menge an BrCCl₃ der HPLC-Reinheit des Oxazolins **98** entsprechend angepasst wurde (Abbildung 4.7). Allerdings konnte die Überoxidation durch Variation der Verhältnisse von DBU und BrCCl₃, der Temperatur sowie der Reaktionszeit nicht weiter verringert, bzw. unterbunden werden. Auch konnten, wie in Abbildung 4.8 (a, b) zu sehen, neben Ausgangsmaterial **98** ($t_R = 16.7$ min) und Biazol **100** ($t_R = 17.3$ min) bereits nach 2 h erste Spuren von Olefin **101** über HPLC-Analyse detektiert werden ($t_R = 18.3$ min).

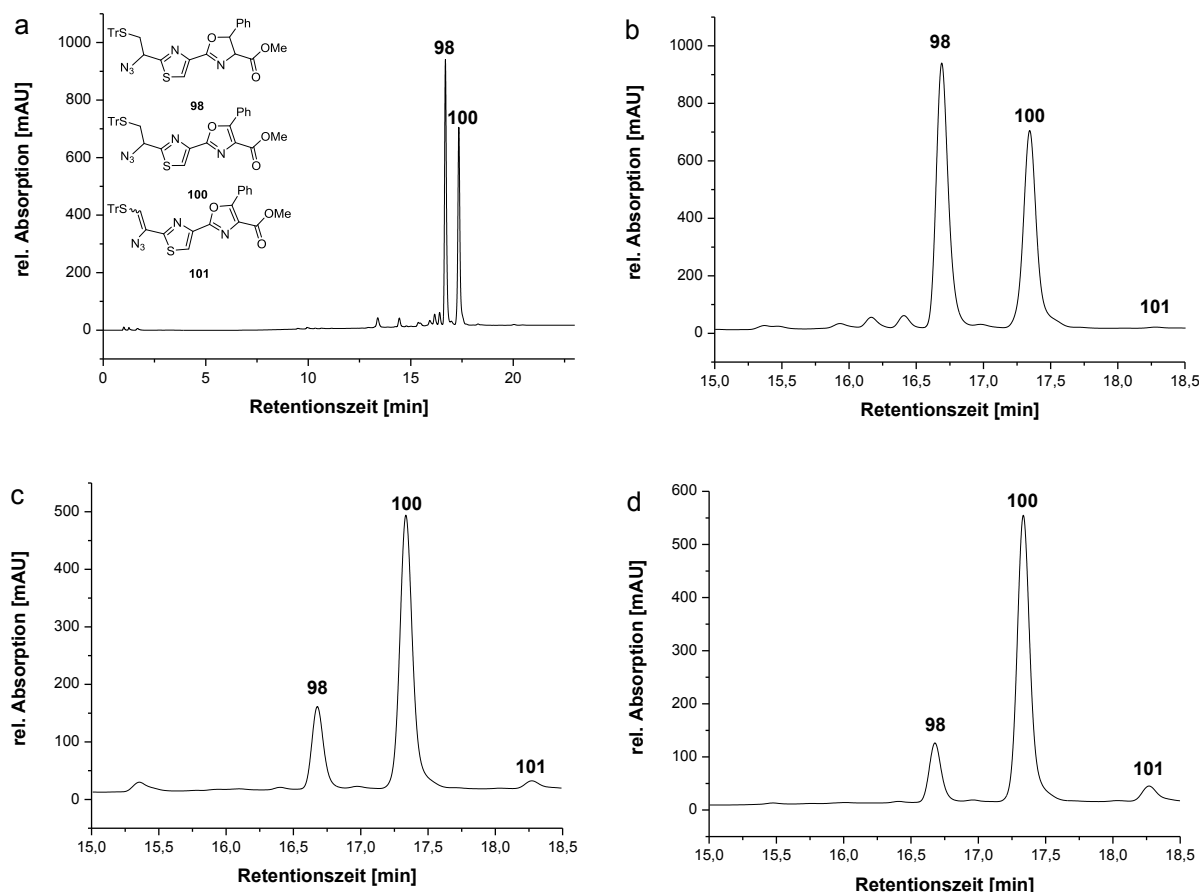


Abbildung 4.8: HPLC-Chromatogramm der Oxidation von Oxazolin **98** ($t_R = 16.7$ min) mit DBU und BrCCl_3 zu Biazol **100** ($t_R = 17.3$ min). Die jeweiligen Proben wurden der Reaktionsmischung entnommen, eingedampft, in MeCN gelöst und in die HPLC injiziert. a) Komplettes Spektrum der Reaktion nach 2 h. b) Ausschnitt des Spektrums der Reaktionsmischung nach 2 h, Spuren an Olefin **101** ($t_R = 18.3$ min) sind bereits zu erkennen (0.3%). c) Ausschnitt des Spektrums der Reaktionsmischung nach 23 h. Die Oxidation von Oxazolin **98** (22%) zu Oxazol **100** (70%), bzw. Olefin **101** (2.6%) war zu diesem Zeitpunkt abgeschlossen. d) Ausschnitt des Spektrums der Reaktionsmischung nach 7 d. Gegenüber dem Chromatogramm nach 23 h war keine signifikante Veränderung des Verhältnisses zwischen Oxazolin **98** (14%), Oxazol **100** (76%) und Olefin **101** (5%) zu beobachten. Gradient: Eluenten: H_2O und MeCN; 1 min 10% MeCN, 11 min 10-95% MeCN, 8 min 95% MeCN, 3 min 10% MeCN, 1 mL/min.

Die Oxidation war nach etwa 23 h abgeschlossen (Abbildung 4.8 c), längere Reaktionszeiten (Abbildung 4.8 d) führten zu keiner signifikanten weiteren Umsetzung des verbliebenen Startmaterials. Eine erneute Zugabe von DBU und BrCCl_3 , oder Isolierung des Ausgangsmaterials und Wiederholung der Reaktion resultierte neben der Bildung von Olefin **101** in keiner signifikanten weiteren Umsetzung zu Biazol **100**. Daher wurde postuliert, dass die auftretende Überoxidation wahrscheinlich auf der hohen Azidität des Wasserstoffs der CH-Gruppe am Azid basierte. Somit führte eine Abstraktion des Protons mit nachfolgender Bromierung mit BrCCl_3 zu einer Eliminierung zu Olefin **101**. Durch Säure-

lenchromatographie konnte dieses Nebenprodukt fast vollständig abgetrennt werden. Verbliebene Mengen an Alken **101** konnten in der nachfolgenden Verseifung des Methylesters **100** mit Me_3SnOH in 1,2-Dichlorethan bei 80 °C (quantitative Ausbeute) und anschließender wässriger Extraktion entfernt werden.

Alternativ zur in Abbildung 4.7 gezeigten Sequenz aus Zyklodehydratisierung und anschließender Oxidation zu Biazol **100**, wurde die Darstellung des Phenyloxazols **100** durch Oxidation des Alkohols **97** und anschließender Zyklodehydratisierung sowie die Zyklisierung über Enamid **103** zusammen mit O. Zumann untersucht (Abbildung 4.9).

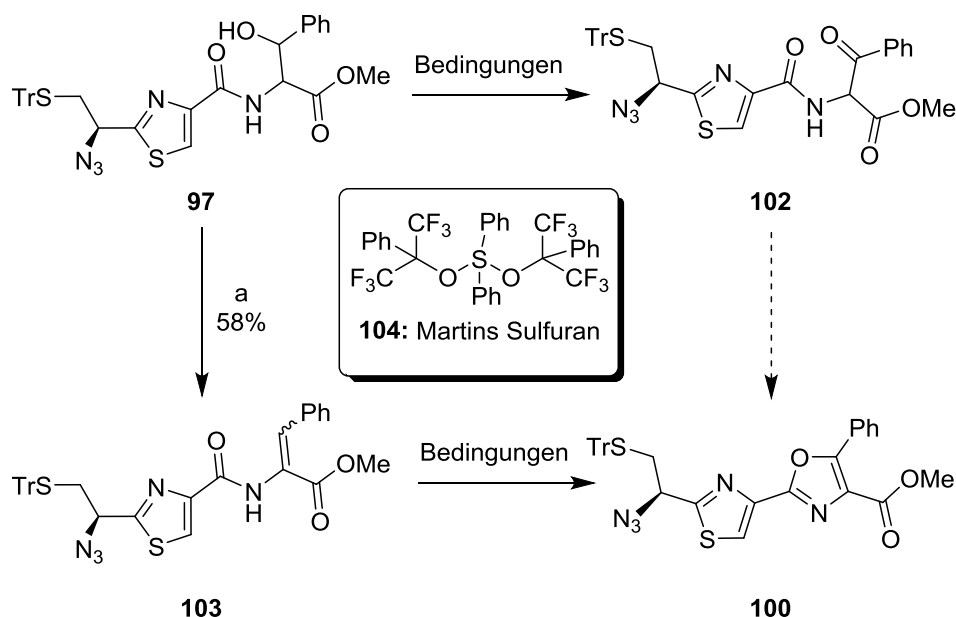


Abbildung 4.9: Alternative Darstellungsmöglichkeiten von Bisazol **100** ausgehend von Alkohol **97**. Bedingung: a) **104**, CH_2Cl_2 , RT, 2.5 h.

Die Oxidation des Alkohols **97** zu Keton **102** unter den Bedingungen von Swern^[155] und Parikh-Doering^[156] sowie mit IBX,^[157] Dess-Martin Periodinan^[158] und DDQ^[159] zeigten keinen Umsatz. Unter den Bedingungen von Swern, bzw. in Gegenwart von Dess-Martin Periodinan konnte die Spaltung des Tritylthioethers beobachtet werden. Während die Umsetzung des Alkohols **97** mit MsCl , NEt_3 und DBU in CH_2Cl_2 nicht zu Enamid **103** führte, konnte dieses mit Martins Sulfuran (**104**) in CH_2Cl_2 in einer Ausbeute von 58% erhalten werden. Unter den untersuchten Bedingungen zur Zyklisierung des Enamids mit Phenyl iododiacetat, Bortrifluoroetherat in refluxierendem 1,2-Dichlorethan, oder Iod, K_2CO_3 und DBU in refluxierendem THF konnte das entsprechende Phenyloxazol **100** nicht detektiert werden.^[160] Dieser Weg wurde daher nicht weiter verfolgt.

4.3 Festphasensynthese und Aufbau des Makrozyklus

Das Tripeptid **86** wurde an einem Tritylchlorid-Harz hergestellt. Dafür wurde das Harz zunächst mit der Carbonsäurefunktion der ersten Aminosäure (FmocHN-Thr(*t*Bu)-OH) verestert (Abbildung 4.10). Nach Bestimmung der Beladungsdichte des Harzes, die zu meist bei 0.6 bis 0.7 mmol/g lag, wurde die Fmoc-Gruppe abgespalten und die zweite Aminosäure, hier FmocHN-Ala-OH, mit der Ersten verknüpft. Nach Spaltung des Carbamats wurde der erhaltene freie *N*-Terminus mit FmocHN-*D*-allo-Ile-OH in Gegenwart von HOBt, HBTU und Et₃NiPr₂ in DMF zum an der festen Phase gebundenen Tripeptid **86** umgesetzt.

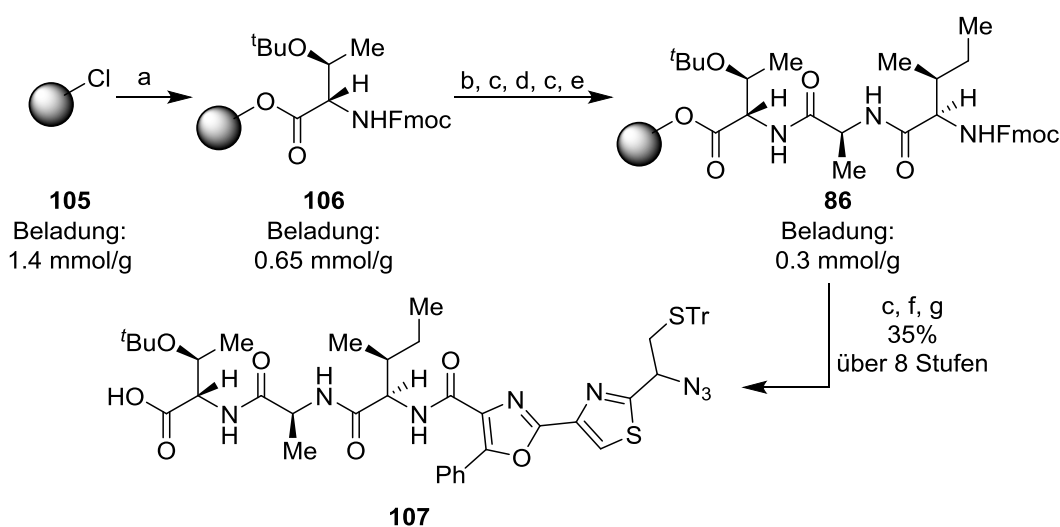


Abbildung 4.10: Festphasensynthese von Carbonsäure **107** ausgehend von Tritylchlorid-Harz **105** (maximale Beladung: 1.4 mmol/g). Bedingungen: a) FmocHN-Thr(*t*Bu)-OH, Et₃NiPr₂, CH₂Cl₂/DMF (5:1, v/v), 5 h; b) CH₂Cl₂/MeOH/Et₃NiPr₂ (17:2:1, v/v/v), 1 h; c) Piperidin/DMF (1:4, v/v), 30 min; d) FmocHN-Ala-OH, HOBt, HBTU, Et₃NiPr₂, DMF, 4.5 h; e) FmocHN-*D*-allo-Ile-OH, HOBt, HBTU, Et₃NiPr₂, DMF, 6 h; f) **85**, HOBt, HBTU, NMM, DMF, 5.5 h; g) TFE/CH₂Cl₂ (1:1, v/v), 24 h.

Zur Berechnung der Stöchiometrie wurde die Beladung des Harzes nach Initialbeladung zum Fmoc- und *t*Butyl-geschützten *L*-Threonin **106** und vor der Reaktion mit Carbonsäure **85** durchgeführt. Nach Entschützung des *N*-Terminus wurde das Tripeptids **86** mit Carbonsäure **85**, HOBt, HBTU und NMM in DMF und anschließender Abspaltung vom Harz in Carbonsäure **107** überführt. Dabei konnte durch Verwendung von TFE und einer Reaktionszeit von 24 h die Tritylcarbonsäureesterbindung zum Harz in Gegenwart des Tritylthioethers selektiv gespalten werden.^[140] Auf diese Weise wurde Carbonsäure **107** ausgehend von Threoninderivat **106** mit einer Ausbeute von 35% über 8 Stufen erhalten.

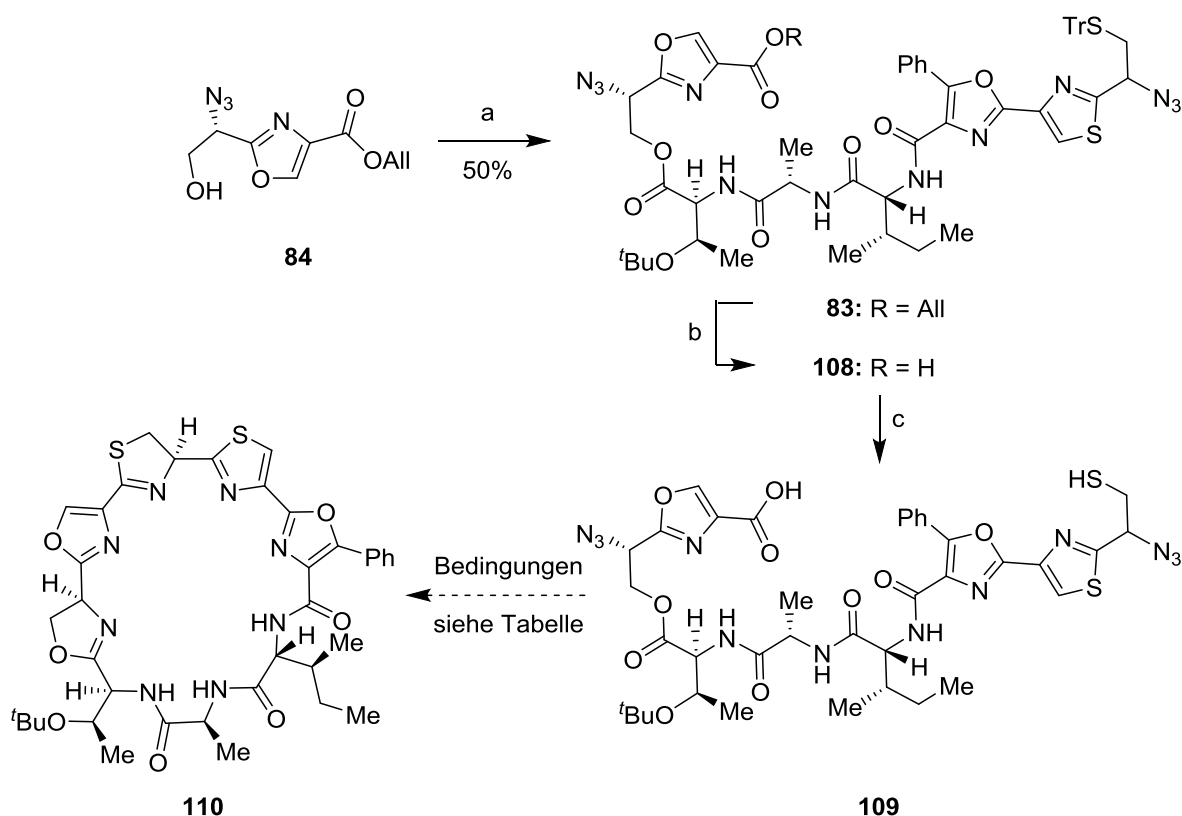


Abbildung 4.11: Darstellung von Depsipeptid **83** ausgehend von Alkohol **84** und Carbonsäure **107** sowie die Versuche zur weiteren Umsetzung zu Bisazolin **110**. Bedingungen: a) **107**, DCC, DMAP, CH₂Cl₂, –10 °C nach RT, 21 h; b) PhSiH₃, Pd(PPh₃)₄, CH₂Cl₂, 1 h; c) TFA, Et₃SiH, CH₂Cl₂, 1 h. Bedingungen siehe Tabelle 4.3.

Die Darstellung von Depsipeptid **83** (Abbildung 4.11) erfolgte im Weiteren durch Steglich Veresterung^[161] von Alkohol **84** mit Carbonsäure **107** in moderater Ausbeute. Darüber hinaus konnte der nach mehrfacher Säulenchromatographie noch vorhandene Dizyklohexylharnstoff auch durch Hydrolyse mit gesättigter, wässriger NH₄Cl-Lösung, mehrfacher Extraktion mit CH₂Cl₂ und anschließendem Auskristallisieren des Harnstoffderivats in MeCN nicht entfernt werden. Auch führten zusätzliche Isolierungs- und Waschschrte zur Hydrolyse der Esterfunktion von Depsipeptid **83**. Die beobachtete Hydrolyselabilität des Azidoesters war im Einklang mit den Ergebnissen vorheriger Arbeiten.^[127,162] Erfolgte die Umsetzung von Alkohol **84** mit Carbonsäure **107** in Gegenwart von DIC, konnte Depsipeptid **83** mit einer Ausbeute von etwa 30% erhalten werden. Das entstehende Harnstoffderivat konnte auch hier nicht vollständig entfernt werden. Gründe für die nicht vollständige Umsetzung könnten sowohl die zu schwache Aktivierung der Carbonsäure **107** durch DIC, als auch die Hydrolyse des Esters **83** unter den verwendeten Reaktionsbedingungen sein. Alternative Aktivierungsreagenzien oder weniger nukleophile Basen wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht.

Die Spaltung von Allylester **83** erfolgte nach Literaturvorschrift mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ und PhSiH_3 in CH_2Cl_2 .^[163] Das erhaltene Reaktionsgemisch wurde nach Entfernen des Lösungsmittels direkt auf Kieselgel aufgetragen und filtriert, um den Pd-Komplex zu entfernen. Tritylthioether **108** wurde dann mit TFA und Et_3SiH behandelt und in das entsprechende Thiol überführt.^[164,165] Die erhaltene ω -Mercaptocarbonsäure **109** sollte anschließend, aufgrund der vermuteten geringen Stabilität des entstehenden Makrothiolactons **82** direkt in das Biazolin **110** überführt werden. Hierzu wurden NMM und PPh_3 mit einem Aktivierungsreagens (Tabelle 4.3) in CH_2Cl_2 suspendiert und über eine Spritzenpumpe zur ω -Mercaptocarbonsäure **109** in $\text{DMF}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (2:3, v/v) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde anschließend auf 40 °C erhitzt und der Fortschritt dieser Eintopf-Reaktion über LC-MS verfolgt.

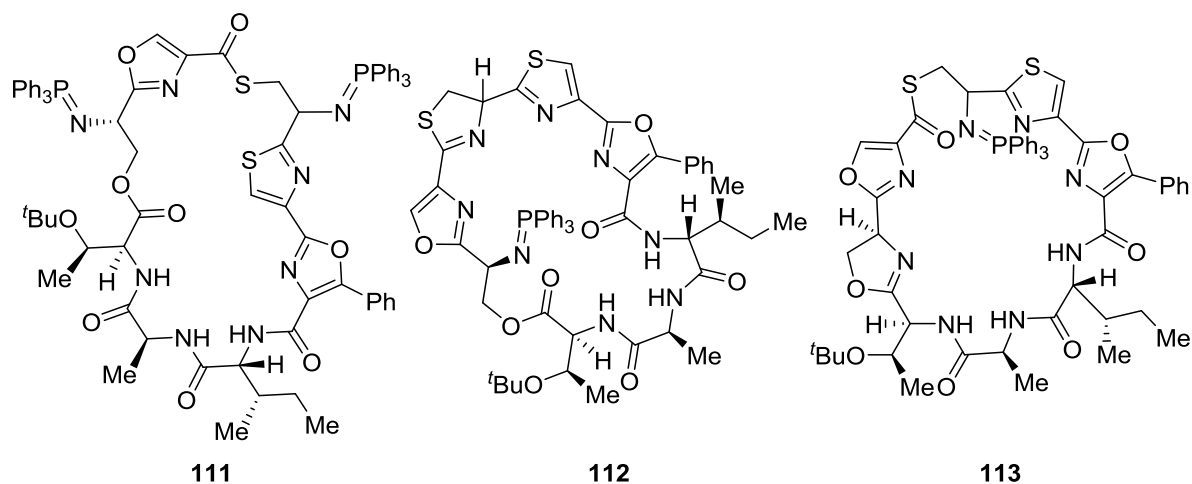


Abbildung 4.12: Mögliche Zwischenprodukte bei der Makrozyklisierung und anschließender doppelter Aza-Wittig-Reaktion der linearen ω -Mercaptocarbonsäure **109** zum zyklischen Biazolin **110**. Die gefundenen Massen wiesen auf die Präsenz des Bisiminophosphorans **111** sowie eines der beiden Monoazolinmonoinminophosphorane **112** oder **113** hin.

Tabelle 4.3: Verwendete Methoden zur Darstellung von Biazolin **110**. Alle Reaktionen wurden mit NMM (2 Äquiv.) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (2:3, v/v) und PPh_3 (3 Äquiv.) bei 40 °C durchgeführt.

Eintrag	Reagenzien (Äquiv.)	Zeit	Gefundene Massen (LC-MS)
1	PyBOP (1.6)	5 d	112/113
2	HOBt (1.6), HBTU (1.2)	5 d	112/113
3	HATU (1.6)	5 d	112/113
4	HOBt (1.6), PyBrOP (1.2)	5 d	111

Nach 5 d konnte das Biazolin **110** in keiner der Reaktionsmischungen beobachtet werden. In den Lösungen der Ansätze, die nach den Bedingungen der Einträge 1-3 durchgeführt

wurden, konnte zumindest die Bildung eines Monoazolinmonoiminophosphorans (**112/113**) (Abbildung 4.12) detektiert werden. Unter der Annahme, dass die Bildung des Biazolins **110** eine höhere Aktivierungsenergie benötigen könnte, wurde das Lösungsmittel der betreffenden Reaktionen durch 2,6-Lutidin ausgetauscht und die Mischungen jeweils auf 80 °C erhitzt. Nach weiteren 6 h konnte jedoch keine weitere Umsetzung beobachtet werden. Danach wurde die Temperatur auf 100 °C erhöht. Dies führte nach mehreren Stunden zur Zersetzung des zuvor gebildeten Iminophosphorans. Aufgrund früherer Erfahrungen war die Bildung von Thiazolinen bereits bei tieferen Temperaturen zu erwarten, wohingegen die Bildung von Oxazolinen über Aza-Wittig-Reaktionen eine höhere Aktivierungsenergie benötigt.^[150] Folglich wurde davon ausgegangen, dass die über LC-MS detektierte Masse der des Thiazolins **112** entsprach. Demgegenüber konnte bei der Aktivierung mit HOBt und PyBrOP (Eintrag 4) die Bildung eines Iminophosphorans nicht detektiert werden.

Als alternative Syntheseroute sollte das Makrothiolacton **82** isoliert und über eine doppelte Aza-Wittig-Reaktion in Biazolin **110** überführt werden. Die Abspaltung des Allylessters und der Tritylgruppe erfolgte unter den zuvor beschriebenen Bedingungen. Zur Makrozyklisierung wurden PyBOP und NMM in CH₂Cl₂ vorgelegt und die entschützte ω-Mercaptocarbonsäure **109** in CH₂Cl₂/DMF (3:2, v/v) über eine Spritzenpumpe innerhalb von 20 min zur Reaktionsmischung getropft. Nach 3 d konnte Makrothiolacton **82** in mäßiger Ausbeute isoliert werden (Abbildung 4.13). Anhand von LC-MS-Analysen der konnten die Bildung des Thiazolins **112** beobachtet, die Masse des Biazolins **110** jedoch nicht detektiert werden.

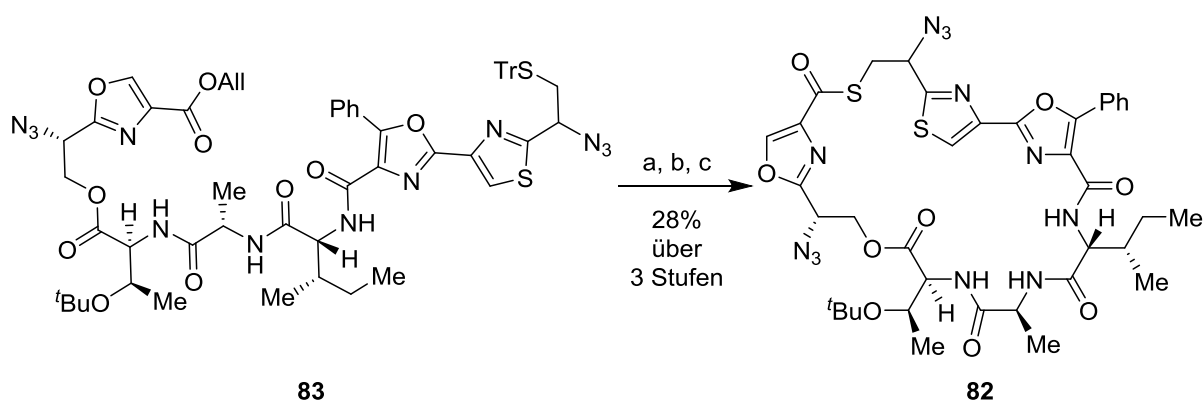


Abbildung 4.13: Darstellung von Makrozyklus **82**. Bedingungen: a) PhSiH₃, Pd(PPh₃)₄, CH₂Cl₂, 1 h; b) TFA, Et₃SiH, CH₂Cl₂, 1 h, c) PyBOP, NMM, CH₂Cl₂/DMF (6:1, v/v), 3 d.

4.3.1 Untersuchungen zur Aza-Wittig-Reaktion

Nachdem Biazolin **110** mit den bisher untersuchten Methoden nicht direkt aus dem Makrozyklus **82** dargestellt werden konnte, sollte die Aza-Wittig-Reaktion auf dem linearen Depsipeptid **83**, bzw. der ω -Mercaptocarbonsäure **109** durchgeführt werden, um nach anschließender Makrozyklisierung das Bisazol **110** erhalten zu können. Die Bildung des Oxazolins **115** (Abbildung 4.14) konnte, wie in Tabelle 4.4 gezeigt, sowohl in 1,2-Dichlo-rethan (Einträge 1, 2), als auch in 2,6-Lutidin (Einträge 3, 4) über LC-MS verifiziert werden.

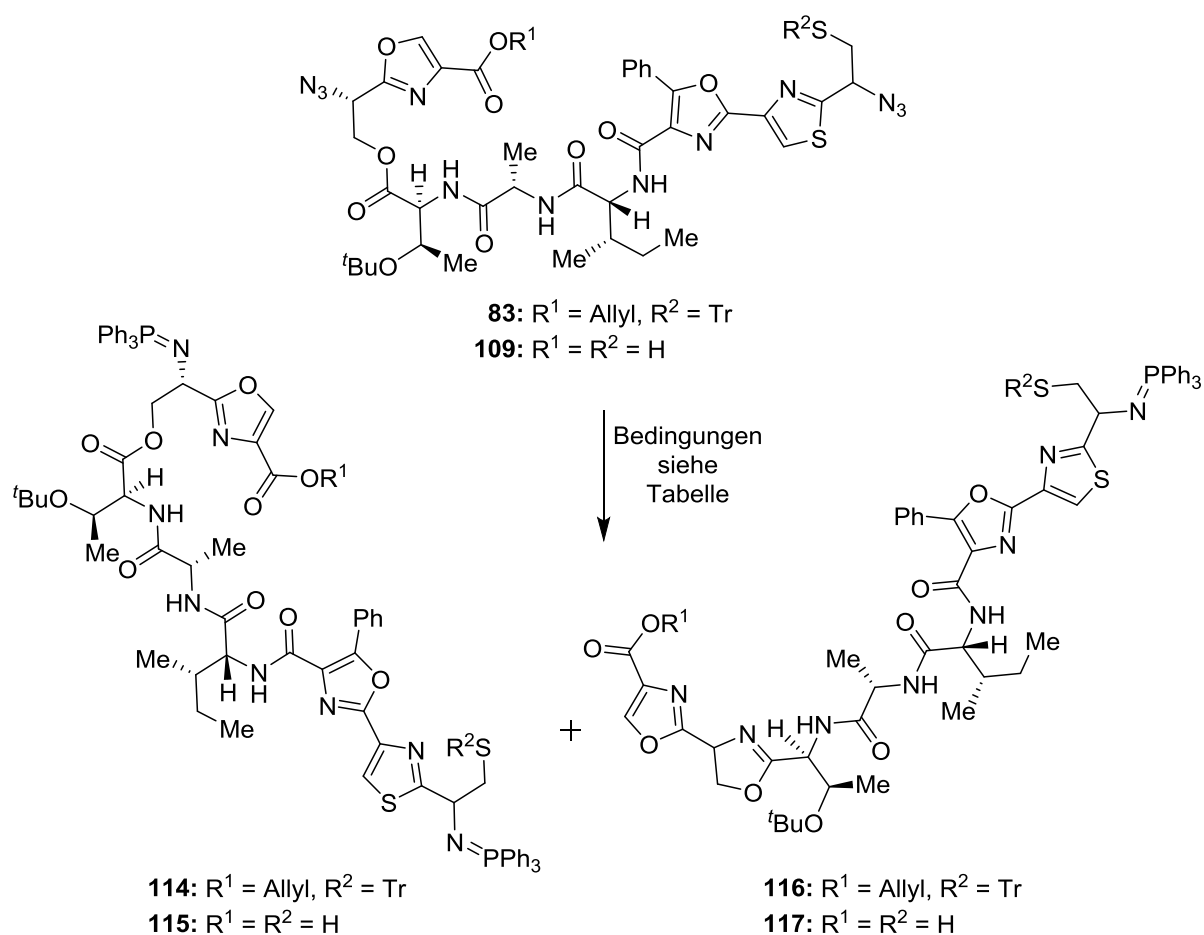
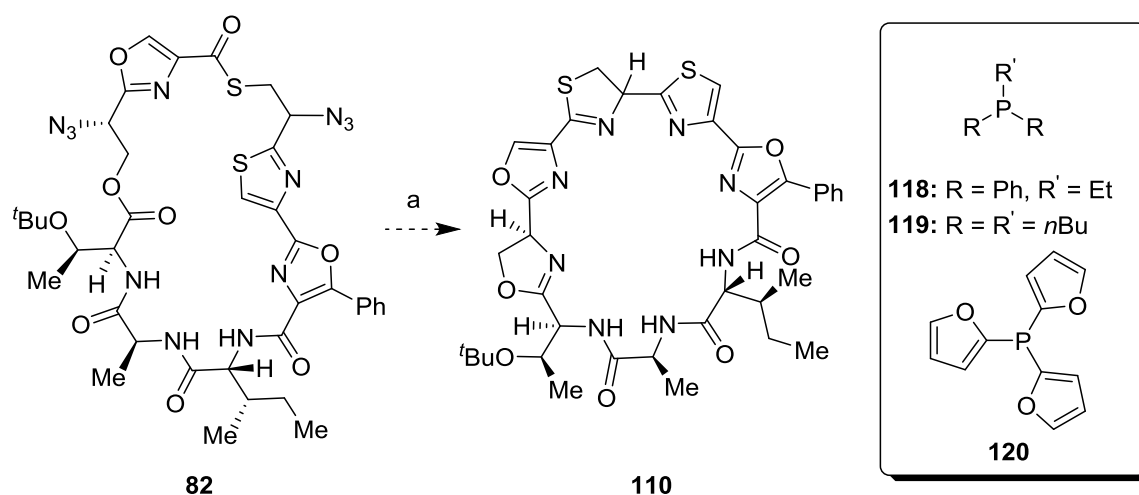


Abbildung 4.14: Durchführung der Aza-Wittig-Reaktion auf den linearen Depsipeptiden **83** und **109**. Bedingungen siehe Tabelle 4.4.

Tabelle 4.4: Untersuchte Bedingungen zur Darstellung von Oxazolin **116**. Die Ansätze wurden mit jeweils 3 Äquiv. PPh₃ durchgeführt.

Eintrag	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Verhältnis 114/116 (LC-MS/HPLC)
1	1,2-Dichlorethan	60 °C,	3 h,	1:1
2		dann 80 °C	dann 2 h	1:7
3	2,6-Lutidin	60 °C,	3 h,	1:1
4		dann 80 °C	dann 2 h	1:5

Die Spaltung des Allylesters und die anschließende saure Tritylthioetherspaltung des Oxazolins **116** sowie die Darstellung des Oxazolins **117** ausgehend von der ω -Mercapto-carbonsäure **109** führten dagegen zur Zersetzung des entsprechenden Iminophosphorans. Alternativ dazu wurde die Umsetzung von Makrozyklus **82** in 1,2-Dichlorethan mit sterisch weniger anspruchsvollen (**118**, **119**), oder elektronenarmen Phosphinen (**120**) untersucht (Abbildung 4.15) und der Reaktionsfortschritt über LC-MS verfolgt.

**Abbildung 4.15:** Untersuchung zur Darstellung des Biazols **110** ausgehend von Makrothiolacton **82** unter Verwendung von EtPPh₂ (**118**), P(*n*Bu)₃ (**119**), bzw. P(2-furyl)₃ (**120**). Bedingung: a) R'PR₂, DCE, 40 °C, 2 h, dann 60 °C, 2.5 h, dann 80 °C, 19 h.

Die Bildung eines zu Iminophosphoran **112** analogen Azolins konnte dabei nur mit EtPPh₂ detektiert werden. Eine Umsetzung zu Biazolin **110** war unter keiner der untersuchten Bedingungen und Temperaturen zu beobachten.

Während die Darstellung der Bausteine dieser Syntheseroute in guten bis sehr guten Ausbeuten und größeren Mengen möglich war, konnte Biazolin **110** unter den beschriebenen Bedingungen nicht erhalten werden. Die Synthesestrategie wurde daher geändert.

4.4 Alternative retrosynthetische Planung

Offenbar war der Ringschluss zum Oxazol im Makrozyklus nicht möglich. Die Oxazole mussten daher bereits vor Bildung des Makrothiolaktons installiert werden. Aus diesen Annahmen wurde die in Abbildung 4.16 dargestellte zweite Synthesestrategie entwickelt.

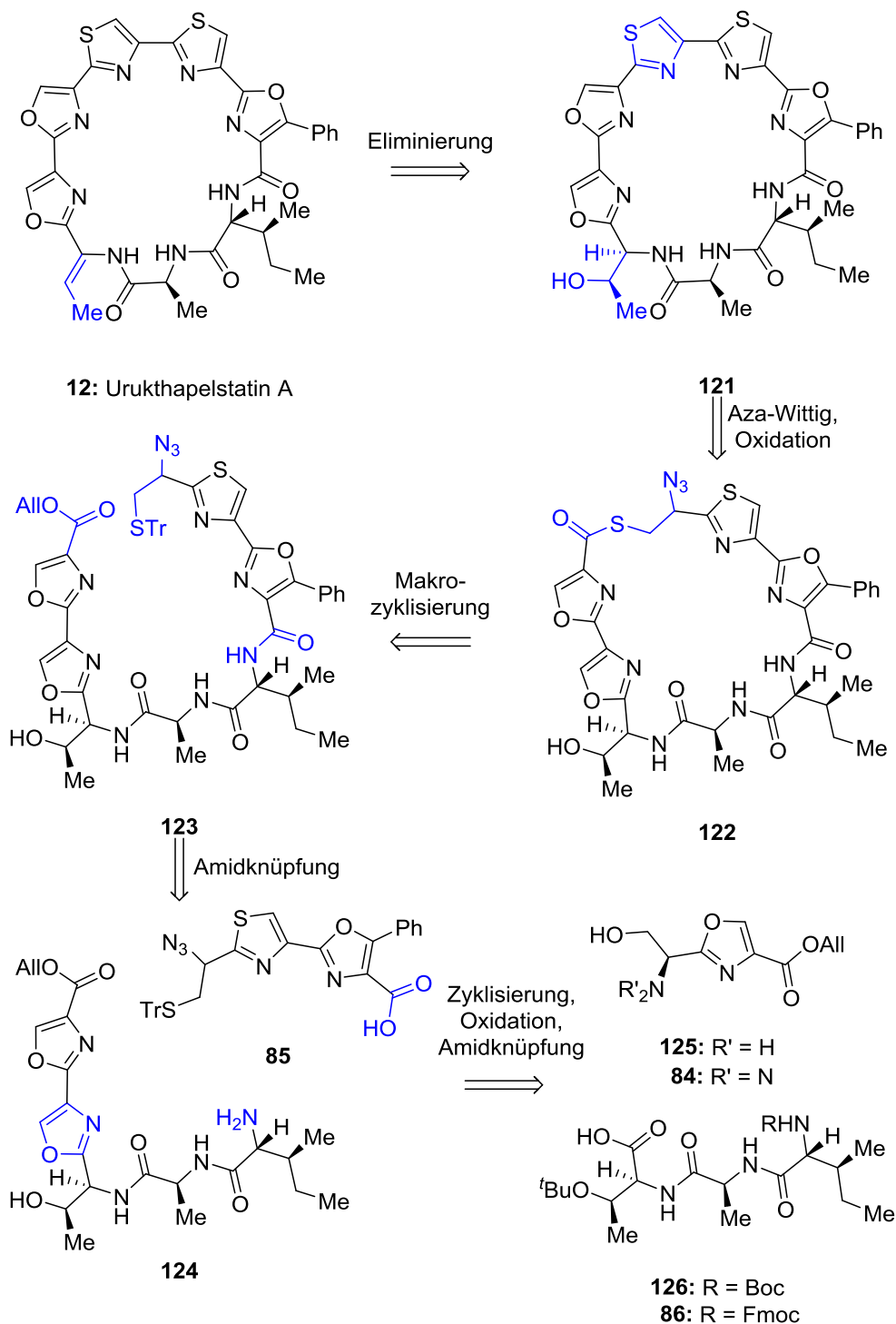


Abbildung 4.16: Zweite retrosynthetische Planung für die Darstellung von Urukthapelstatin A (**12**) ausgehend von Tripeptid **126**, bzw. **86** und den bereits in der ersten Retrosynthese verwendeten Azolen **85** und **125**, bzw. **84**.

Durch die Einführung des Biazols **124** vor der Darstellung des Makrozyklus und den zuvor gewonnenen Daten über die Möglichkeit der Ausbildung des zentralen Thiazolins über Aza-Wittig-Reaktion nach der Synthese des Thiolactons **122**, sollte das Pentaazol **121** über Aza-Wittig-Reaktion und Oxidation aus dem Azid **122** aufgebaut werden können. Im Unterschied zur ursprünglichen Planung (Abbildung 4.1) sollte daher die Amidbindung zwischen Biazol **85** und dem neuen Bioxazolbaustein **124** erst kurz vor der Makrozyklisierung geknüpft werden. Amin **124** würde dabei über Zyklisierung, Oxidation und Amidknüpfung aus dem, an der festen Phase herzustellenden Boc-geschützten **126**, bzw. Fmoc-geschützte Tripeptid **86** sowie aus Azid **84**, bzw. dessen Vorstufe dem Aminoalkohol **125** hervorgehen (Abbildung 4.2).

4.5 Untersuchungen zur Darstellung des Bioxazols 122

Zunächst sollte untersucht werden, ob das Biazol **124** effizienter über die Aza-Wittig-Reaktion aus Azid **84**, oder über DAST-vermittelte Zyklodehydratisierung aus dem Aminoalkohol **125** dargestellt werden kann. Zusätzlich sollte geklärt werden, ob für die entsprechenden Reaktionen das Boc-geschützte Tripeptid **126**, oder dessen Fmoc-geschütztes Analogon **86** besser geeignet ist.

Für diese Untersuchungen wurde das im Folgenden beschriebene Testsystem entwickelt. Ausgehend von BocHN-Thr(*t*Bu)-OH (**127**) konnte über Steglich Veresterung mit Azid **84** Ester **128** mit einer Ausbeute von 40%, bzw. durch Umsetzung mit Amin **125** in Gegenwart von HBTU das Amid **129** in 52% Ausbeute erhalten werden. Die anschließende Bildung des Oxazolins **130** erfolgte über Aza-Wittig-Reaktion mit PPh₃ in 2,6-Lutidin aus Ester **128**, bzw. über DAST aus Alkohol **129** mit einer Ausbeute von 85%, bzw. 90%. Eine Darstellung des entsprechenden zu Oxazolin **130** analogen, Fmoc-geschützten Azolins konnte weder über Aza-Wittig-, noch über DAST-vermittelte Zyklisierung erfolgen. Für die nachfolgenden Reaktionen wurde daher die Boc-Schutzgruppe verwendet.

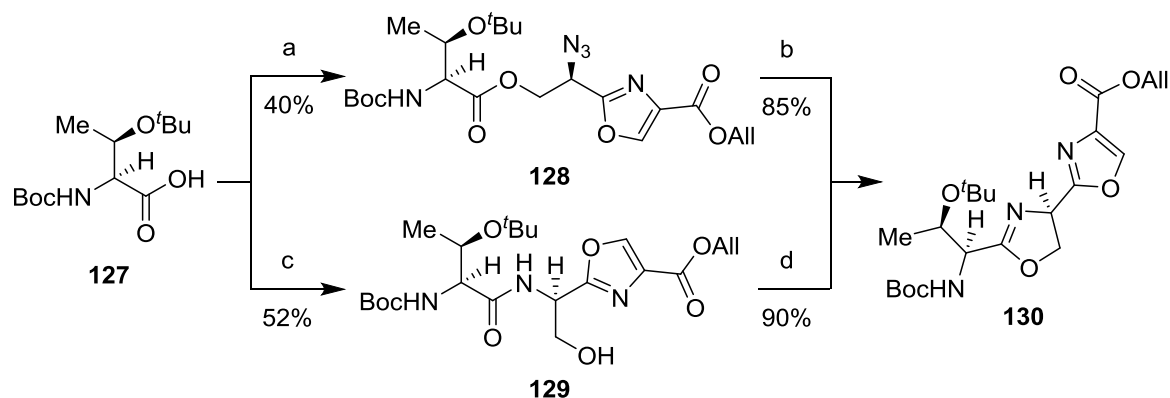


Abbildung 4.17: Darstellung des Oxazolins **130** über die Aza-Wittig-Reaktion (oberer Syntheseweg), bzw. über Zyklisierung mit DAST (unterer Syntheseweg). Bedingungen: a) **84**, DCC, DMAP, Imidazol, CH₂Cl₂/DMF (8:1, v/v), 0 °C nach RT, 43 h; b) PPh₃, 2,6-Lutidin, -196 °C nach 90 °C, 21 h; c) **125**, HBTU, Et₃N, CH₂Cl₂/DMF (4:7, v/v), 0 °C nach RT, 22 h; d) DAST, K₂CO₃, CH₂Cl₂, -78 °C nach RT, 5 h.

Als nächstes wurde die Oxidation zu Bioxazol **131** untersucht (Abbildung 4.18). Erfolgte diese mit DBU und BrCCl₃ (Tabelle 4.5 Eintrag 1), konnte Oxazolin **130** fast vollständig zurückgewonnen werden.

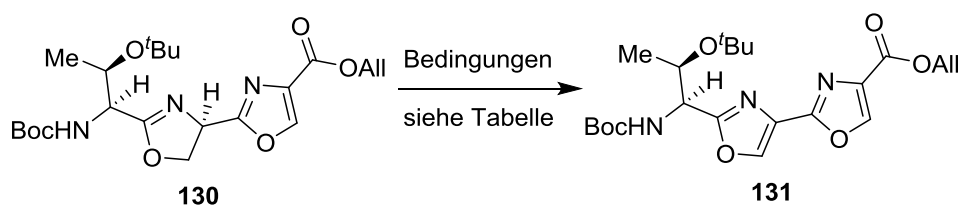


Abbildung 4.18: Oxidation von Oxazolin **130** zu Bioxazol **131**. Bedingungen siehe Tabelle 4.5.

Tabelle 4.5: Untersuchte Bedingungen zur Darstellung des Bioxazols **131** aus Oxazolin **130**. a: isolierte Ausbeute.

Eintrag	Reagenzien (Äquiv.)	Lösungsmittel	Temperatur	Zeit	Beobachtung (HPLC)
1	DBU (2.7), BrCCl ₃ (1.6)	CH ₂ Cl ₂	-25 °C nach RT	3 d	87% 130 ^a
2 ^[166]	IBX (1.5)	DMSO	RT	4 d	83% 130
3	DBU (10), BrCCl ₃ (7.5)	CH ₂ Cl ₂	-25 °C nach RT	4 d	90% 130
4	DBU (5)	CCl ₄	-25 °C nach RT	4 d	88% 130
5 ^[167]	DDQ (1.5)	Toluol	100 °C	2 d	Zersetzung
6	DBU (2.7)	CCl ₄ /MeCN/Pyridin (2:3:3, v/v/v)	-45 °C nach RT	22 h	23% 131 ^a 64% 130 ^a
7	DBU (10)	CCl ₄ /MeCN/Pyridin (2:3:3, v/v/v)	-60 °C nach RT	3 d	60% 131 ^a

Ansätze bei welchen 10 Äquiv. DBU und 7.5 Äquiv. BrCCl₃ (Eintrag 3), oder IBX in DMSO^[166] (Eintrag 2) zu Einsatz kamen sowie bei der Durchführung der Reaktion in CCl₄ (Eintrag 4) wurde primär das Ausgangsmaterial reisoliert. Die Reaktion mit DDQ in Toluol bei 100 °C^[167] (Eintrag 5) führte zur Zersetzung. Unter Verwendung von 2.7 Äquiv. DBU in einem Gemisch aus CCl₄, MeCN und Pyridin^[113] (Eintrag 6), konnten bereits 23% des Bioxazols **131** erhalten werden. Durch Erhöhung der Menge an DBU (10 Äquiv.) und verlängern der Reaktionszeit auf 3 d (Eintrag 7), konnte die Ausbeute sogar auf 60% erhöht und Oxazolin **130** nicht mehr nachgewiesen werden.

Für die Darstellung des nicht terminalen Oxazols **131** wurden, im Vergleich zu endständigen Azolen, wie den Oxazolen **89** (Abbildung 4.2), oder **100** (Abbildung 4.7) sowie dem Thiazol **93** (Abbildung 4.3) harschere Bedingungen benötigt (Tabelle 4.5, Eintrag 7). Dies könnte durch die hier fehlende elektronenziehende Gruppe, wie etwa den in den Oxazolen **89** und **100** vorhandenen Estern in 5-Position begründet sein. Aufgrund der daraus resultierenden niedrigeren Azidität des zu abstrahierenden Protons wurden weniger basische Bedingungen benötigt. Eine vergleichbare Reaktion, bei der ebenfalls eine Kombination aus DBU und Pyridin zum Einsatz kam, wurde von Hernández *et al.* für die Totalsynthese von Mechercharstatin A (**14**) berichtet.^[113] Aufgrund dessen, dass die Oxidation nicht terminaler Thiazole unter milderer Bedingungen erfolgt (Abbildung 4.26), scheint auch der in Kapitel 2.3 thematisierte größere Öffnungswinkel einen Einfluss auf die benötigte Basizität zu haben.

4.6 Aufbau des Makrozyklus

Nachdem die Bedingungen zur Darstellung des Bioxazols **131** auf einem Modellsystem etabliert werden konnten, wurden diese im Folgenden auf die Synthese des Amins **124** übertragen. Das dazu benötigte Boc-geschützte Tripeptid **126** wurde an der festen Phase hergestellt. Dies ermöglicht einen einfacheren Zugang zur späteren Derivatisierungen des Peptidrückrats.

Die Synthese der Carbonsäure **126** erfolgte, wie in Abbildung 4.19 dargestellt.

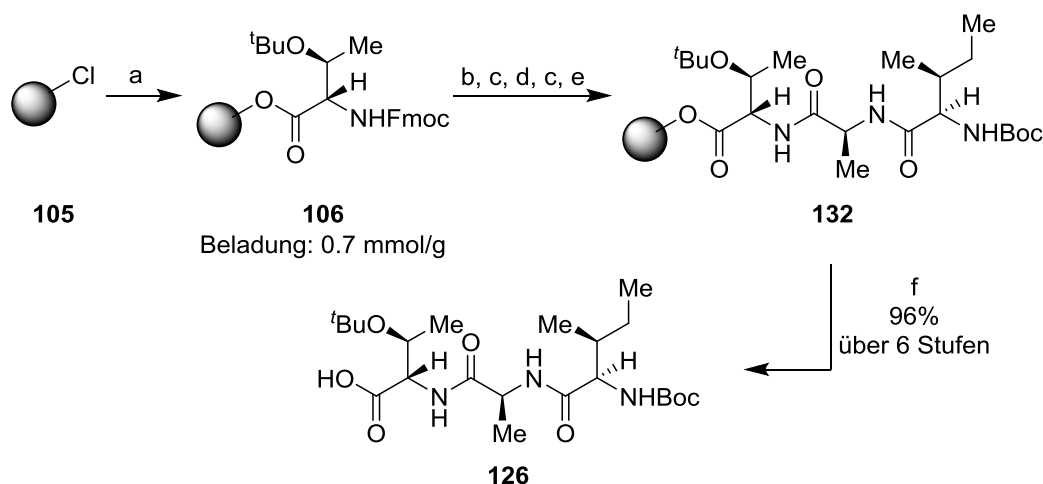


Abbildung 4.19: Festphasensynthese und anschließende Abspaltung des Tripeptids **126** vom festen Träger. Bedingungen: a) FmocHN-Thr(*t*Bu)-OH, Et₃NiPr₂, DMF/CH₂Cl₂ (1:1, v/v), 5.5 h; b) CH₂Cl₂/MeOH/Et₃NiPr₂ (17:2:1, v/v/v), 1 h; c) Piperidin/DMF (1:4, v/v), 22 min; d) FmocHN-Ala-OH, HOBt, HBTU, Et₃NiPr₂, DMF, 7 h; e) BocHN-*D*-allo-Ile-OH, HOBt, HBTU, Et₃NiPr₂, DMF, 6 h; f) HFIP/CH₂Cl₂ (1:1, v/v), 30 min.

In Analogie zum Aufbau des Fmoc-geschützten Tripeptids **86** wurde das Tritylchlorid-Harz mit FmocHN-Thr(*t*Bu)-OH verestert und die Beladung bestimmt (0.7 bis 0.8 mmol/g). Nach Fmoc-Spaltung in Piperidin/DMF und Verknüpfung des freien *N*-Terminus mit FmocHN-Ala-OH unter Bildung eines Aktivesters mit HBTU, HOBt und Et₃NiPr₂, wurde erneut die *N*-terminale Fmoc-Gruppe abgespalten. Durch Umsetzen mit BocHN-*D*-allo-Ile-OH, in Gegenwart von HBTU, HOBt und Et₃NiPr₂ konnte Tripeptid **132** an der festen Phase erhalten werden. Nach Abspaltung mit 50 Vol.-% HFIP in CH₂Cl₂ wurde Carbonsäure **126**, ausgehend von der zuvor bestimmten Beladung, über sechs Stufen in nahezu quantitativer Ausbeute erhalten.

Die Synthese des Oxazols **133** (Abbildung 4.20) aus Carbonsäure **126** und Aminoalkohol **125** mit HBTU, HOBt und Et₃NiPr₂ in DMF/CH₂Cl₂ erfolgte in einer Gesamtausbeute von 92%.

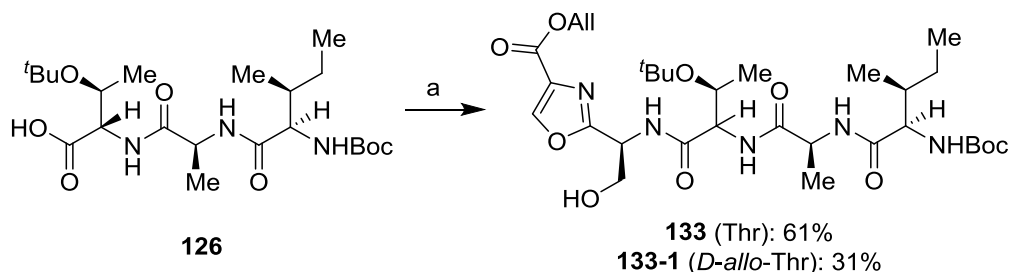


Abbildung 4.20: Synthese des Oxazolidinons **133** und dessen Epimer **133-1** im Verhältnis 2:1. Bedingung: a) **125**, HBTU, HOBt, Et₃NiPr₂, CH₂Cl₂/DMF (1:1, v/v), 0 °C nach RT, 23 h.

Im ¹H-NMR-Spektrum des Amids **133/133-1** (Abbildung 4.21) konnte eine Aufspaltung des Oxazolsignals bei 8.21, bzw. 8.20 ppm, mit einem Verhältnis von etwa 2:1 beobachtet

werden. In der weiteren Synthese konnte das zweite Signal (8.20 ppm) dem Epimer **133-1** zugeordnet werden (Tabelle 4.9). Eine Trennung des gewünschten Isomers **133** vom *D-allo*-Thr-Derivat **133-1** war durch Ausfällen aus EtOAc möglich.

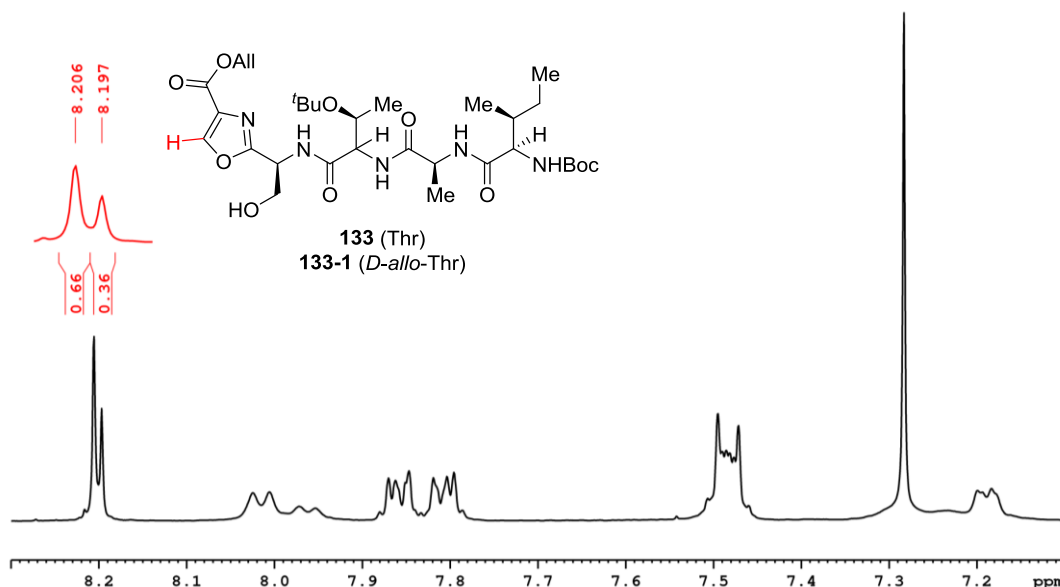


Abbildung 4.21: Ausschnitt des aromatischen Bereiches vom ^1H -NMR-Spektrum des Epimerengemisches des *L*-Thr- **133** (8.21 ppm), bzw. des *D-allo*-Thr-Derivates **133-1** (8.20 ppm) nach Säulenchromatographie.

Zur Unterdrückung der Epimerisierung am α -C-Atom des Threonins wurden verschiedene Kombinationen von Aktivierungsreagenzien, Basen und Lösungsmittel untersucht. Hierfür wurde zunächst das Epimerenverhältnis bei den Aktivierungen mit PyAOP, HATU/HOBt, HOAt/HOBt und COMU in Gegenwart von Et_3N in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ über HPLC ermittelt. Nach 20 h wurde nur mit PyAOP eine Umsetzung beobachtet sowie ein Epimerenverhältnis der Amide **133/133-1** von 9:1. Bei der Durchführung der Amidsynthese mit PyAOP und Et_3N , NMM oder 2,6-Lutidin in DMF, THF, oder Toluol/DMF konnte die Bildung des Produktes nicht beobachtet werden.

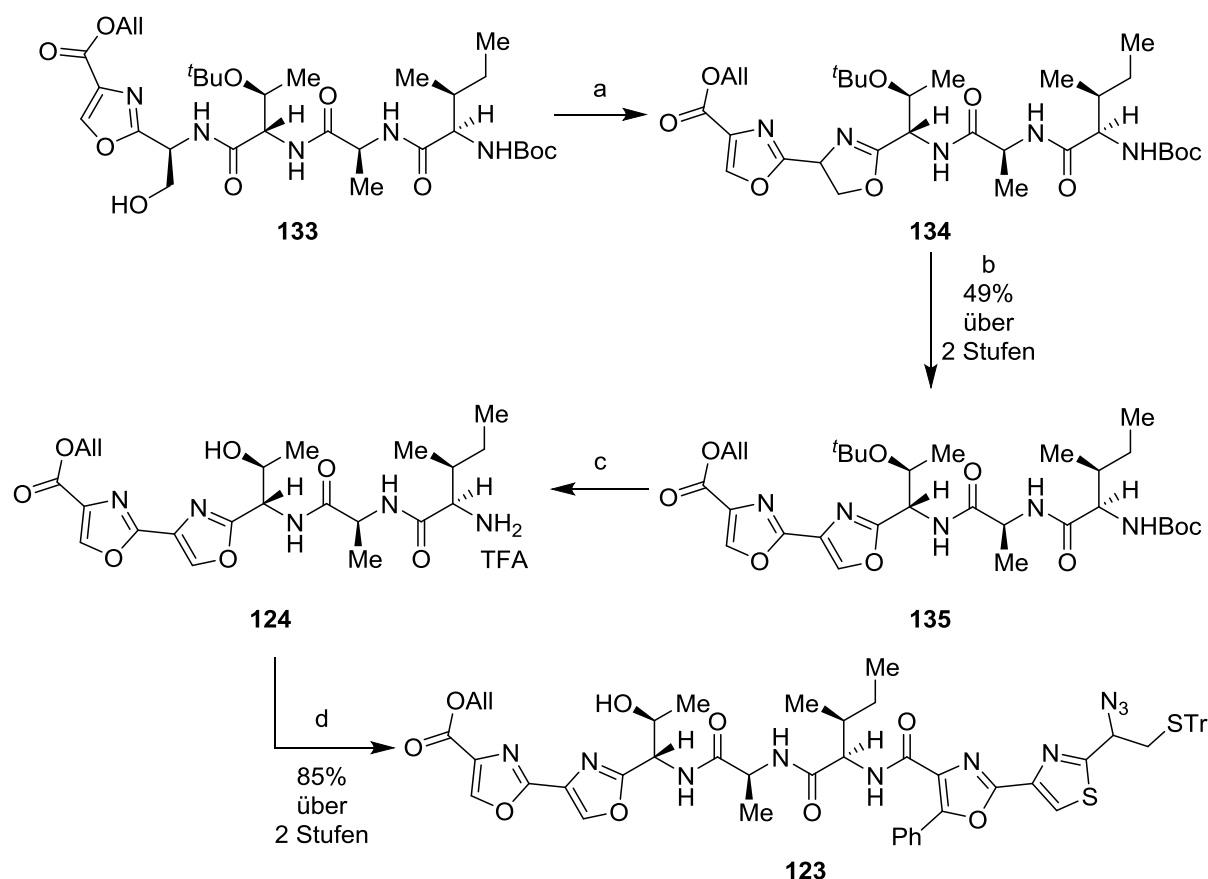


Abbildung 4.22: Synthese des Tetraazols **123**. Bedingungen: a) DAST, K_2CO_3 , CH_2Cl_2 , $-75^\circ C$ nach RT, 6 h; b) DBU, MeCN/ CCl_4 /Pyridin (3:2:3, v/v/v), $-60^\circ C$ nach RT, 3 d; c) Anisol, TFA/ CH_2Cl_2 (1:1, v/v), 2.5 h; d) **85**, HBTU, $EtNiPr_2$, CH_2Cl_2 /DMF (1:1, v/v), $0^\circ C$ nach RT, 2 d.

Die Darstellung des Bioxazols **135** aus Alkohol **133** erfolgte analog der, in Kapitel 4.5 ermittelten Bedingungen (Abbildung 4.22) mit einer Ausbeute von 49% über zwei Stufen. Nach saurer Spaltung des *t*Butylethers und -carbamats mit TFA und Anisol in CH_2Cl_2 und anschließender Amidbildung mit Carbonsäure **85**, HBTU und $EtNiPr_2$ wurde Tetraazol **123** in sehr guter Ausbeute erhalten (85% über 2 Stufen).

Die Spaltung des Allylester **123** (Abbildung 4.23) wurde analog der Darstellung von Carbonsäure **108** (Abbildung 4.11) mit $Pd(PPh_3)_4$ und $PhSiH_3$ durchgeführt (Tabelle 4.6, Eintrag 1).

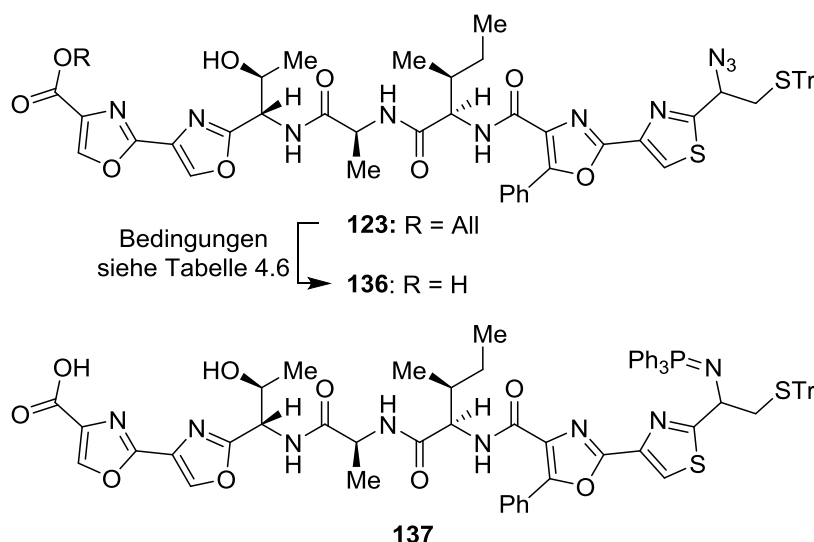


Abbildung 4.23: Spaltung des Allylesters **123** sowie das unter einigen Bedingungen gebildete Iminophosphoran **137**. Die untersuchten Bedingungen wurden in Tabelle 4.6 zusammengefasst.

Aufgrund der für diese Umsetzung unerwartet geringen Ausbeute (51%) wurden neben PhSiH_3 andere Abfangreagenzien (Dimedon, Morpholin) in THF (Einträge 2-4) sowie in CH_2Cl_2 (Einträge 5-7) untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Reaktion mit PhSiH_3 vollständig (51% in CH_2Cl_2 und 49% in THF)^[163] verlief, bei der Verwendung von Dimedon^[168] oder Morpholin^[169] jedoch kein vollständiger Umsatz über DC-Kontrolle zu beobachten war. Bei der Durchführung der Reaktion mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ und Dimedon in THF konnte eine Spaltung des Tritylthioethers beobachtet werden (Eintrag 2). Generell schien die Hydrolyse in Gegenwart von 20 Äquiv. an Abfangreagenz und zumeist 20 mol% an Katalysator zum Teil nicht vollständig zu verlaufen. Auch führte das durch Ligandenaustausch frei gewordene PPh_3 unter einigen Bedingungen (Einträge 4-7) zur Bildung des Iminophosphorans **137**. Die daraus resultierende mögliche Staudinger Reduktion könnte ebenfalls ein Grund für die geringe Ausbeute sein. Für die weiteren untersuchten Bedingungen (Einträge 8-13) wurde daher auf die Vermeidung möglicher PPh_3 -Quellen geachtet. Mit LiOH in $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:4, v/v)^[170] (Eintrag 8) sowie PdCl_2 in MeOH ^[171] (Eintrag 9) konnten nach mehreren Stunden, bzw. Tagen über DC-Kontrolle keine, oder nur eine geringe Umsetzung des Allylesters **123** detektiert werden. Gute bis exzellente Ausbeuten wurden dagegen mit $\text{Pd}(\text{dba})_2$ als Palladiumquelle erzielt. Mit Morpholin oder PhSiH_3 in CH_2Cl_2 (Einträge 11 und 12) konnte nach Zugabe weiterer Äquivalente an Abfangreagenzien sowie 10 mol% $\text{Pd}(\text{dba})_2$ ebenfalls ein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Bei der Hydrolyse in Gegenwart von PhSiH_3 wurde auf der DC die Bildung verschiedener Nebenprodukte beobachtet. Die Spaltung des Allylesters **123** gelang schließlich mit 20 mol% $\text{Pd}(\text{dba})_2$ und 20 Äquiv. Morpholin in CH_2Cl_2 in fast quantitativer Ausbeute

(Eintrag 13). Nach vollständiger Reaktion wurde die erhaltene Mischung direkt säulen-chromatographisch getrennt. Bei saurer oder basischer wässriger Extraktion wurde die Bildung einer hochviskosen gelben, bzw. roten Masse sowie eine stark verlangsamte Pha-sentrennung beobachtet, zusätzlich sank die isolierte Ausbeute um 50-70%. Wurde die Reaktionsmischung zuerst mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung extrahiert und die wässrige Phase vor Extraktion mit CH_2Cl_2 auf pH 2 angesäuert, konnte Carbonsäure **136** in guter Reinheit isoliert werden. Jedoch war diese wässrige Extraktion nur bei kleineren Ansätzen (< 10 mg) effizient.

Tabelle 4.6: Bedingungen zur Spaltung des Allylesters **123** zu Carbonsäure **136**. a: DC-Kontrolle, b: die Reakti-on verlief nicht vollständig.

Eintrag	Bedingungen (Äquiv.)	Lösungsmittel	Zeit	Beobachtung/ Bemerkung
1 ^[163]	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.2), PhSiH_3 (2)	CH_2Cl_2	2 h	51% Ausbeute
2 ^[168]	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.1), Dimedon (2 + 2)	THF	23 h	Tr-Spaltung ^{a, b}
3 ^[169]	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.1), Morpholin (10 + 10 + 10)	THF	23 h	Diverse Nebenprodukte ^{a, b}
4	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.2), PhSiH_3 (10)	THF	1.5 h	49% Ausbeute, Zusätzlich Bildung 137 ^a
5	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.1), Dimedon (10 + 10)	CH_2Cl_2	3 d	Nach 5 h Bildung 137 ^{a, b}
6	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.1), Morpholin (10 + 10)	CH_2Cl_2	3 d	Nach 1 h Bildung 137 ^{a, b}
7	$\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.1), PhSiH_3 (10 + 10)	CH_2Cl_2	3 d	Nach 1 h Bildung 137 ^{a, b}
8 ^[170]	LiOH (5)	THF/ H_2O (1:4, v/v)	22 h	Kaum Umsetzung ^{a, b}
9 ^[172]	PdCl_2 (0.1)	MeOH	3 d	Kaum Umsetzung ^{a, b}
10	Pd(dba)_2 (0.1), Dimedon (10 + 10)	CH_2Cl_2	3 d	Nach 21 h: Zugabe weitere Äquiv. ^{a, b}
11	Pd(dba)_2 (0.1 + 0.1), PhSiH_3 (10 + 10)	CH_2Cl_2	24 h	Nach 2 h: Zugabe weitere Äquiv., diverse Nebenprodukte ^a
12	Pd(dba)_2 (0.1 + 0.1), Morpholin (10 + 10)	CH_2Cl_2	4 h	Nach 2 h: Zugabe weitere Äquiv. ^a
13	Pd(dba)_2 (0.2), Morpholin (20)	CH_2Cl_2	3 h	97% Ausbeute

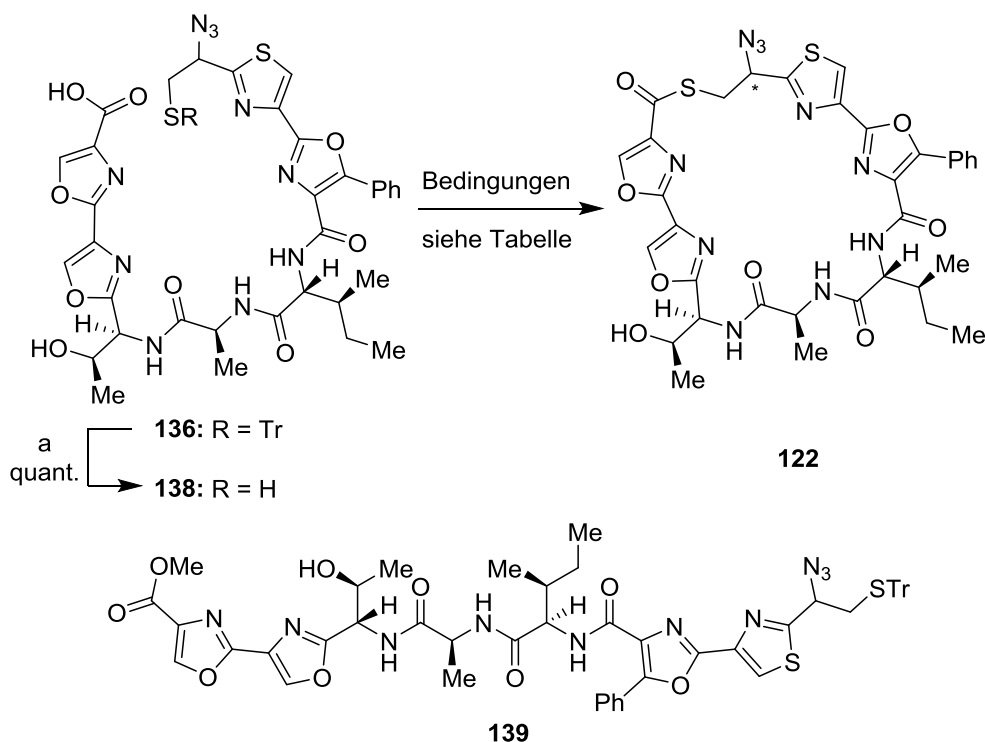


Abbildung 4.24: Tritylthioetherspaltung und anschließende Makrozyklisierung zum Thiolacton **122**. Bedingungen: a) Et_3SiH , TFA, CH_2Cl_2 , 1 h. Bedingungen Makrozyklisierung siehe Tabelle 4.7. Der Methylester **139** entsteht bei der Exposition des Makrothiolactons **122** mit MeOH, z.B. während der Säulenchromatographie.

Die Spaltung des Tritylthioethers **136** unter Bildung der ω -Mercaptocarbonsäure **138** (Abbildung 4.24) erfolgte mit Et_3SiH und TFA in CH_2Cl_2 . Versuche, diese mit AgNO_3 und Pyridin in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (2:1, v/v),^[165] oder in DMF/MeOH (2:1, v/v)^[173] und anschließender Komplexierung des Ag^+ mit 1,2-Ethandithiol in CH_2Cl_2 durchzuführen, waren weniger effizient.

Für die Makrozyklisierung wurden unterschiedliche Bedingungen untersucht. Eine Übersicht der verwendeten Methoden mit entsprechenden Ergebnissen ist in Tabelle 4.7 zusammengefasst.

Tabelle 4.7: Untersuchte Bedingungen und Methoden zur Darstellung des Makrozyklus **122**. Die Zugabe einer oder mehrerer Lösungen erfolgte mittels Spritzenpumpe. Methoden: a) Lösung von **138** über 40 min zur Reaktionsmischung getropft; b) Lösungen von **138** und Kopplungsreagenz(ien) jeweils über 4.5 h zur Reaktionsmischung getropft; c) Lösungen von PyBOP und EtNiPr₂ manuell zu **138** getropft; d) Lösung von **138** über 3 h zur Reaktionsmischung getropft; e) Lösung von PyBOP und EtNiPr₂ über 3 h zur Lösung von **138** getropft; f) isolierte Ausbeute; g) Detektion per HPLC- und LC-MS, die Prozentangabe bezieht sich auf den relativen Anteil am Reaktionsgemisch.

Eintrag	Bedingungen (Äquiv.)	Zeit	Beobachtung/ Ausbeute
1	PyBOP (1.6), EtNiPr ₂ (2), CH ₂ Cl ₂ /DMF (7:3, v/v; 1.7 mM) ^a	2.5 d	36% ^f , OPPh ₃ enthalten
2	PyBOP (1.6), HOBt (1.6), EtNiPr ₂ (2), CH ₂ Cl ₂ /DMF (41:9, v/v; 1.7 mM) ^b	2 d	15% ^f
3	PyBOP (1.2), EtNiPr ₂ (2), THF (1 mM) ^c	17 h	Diverse Nebenprodukte, 122 (23%) und OPPh ₃ ^g
4	PyBOP (1.2), EtNiPr ₂ (2), MeCN (1 mM) ^c	17 h	Diverse Nebenprodukte, 122 (15%) und OPPh ₃ ^g
5	PyBOP (1.2), EtNiPr ₂ (2), CH ₂ Cl ₂ (1 mM) ^c	17 h	Diverse Nebenprodukte, 122 (8%) und OPPh ₃ ^g
6	PyBOP (3), EtNiPr ₂ (5), THF (1 mM) ^d	5 h	39% ^f , OPPh ₃ enthalten
7	PyBOP (6.8), EtNiPr ₂ (10), THF (0.1 mM) ^e	2 d	25% ^f , OPPh ₃ enthalten
8	PyBOP (1.2), EtNiPr ₂ (2), CH ₂ Cl ₂ /DMF (7:3, v/v; 1.6 mM) ^b	1 d	88% ^f

Zur Makrozyklisierung zum Thioester **122** wurde PyBOP als Aktivierungsreagenz (in Eintrag 2 wurde zusätzlich HOBt verwendet) und EtNiPr₂ als Base eingesetzt, wobei die Reaktion entweder in einem Gemisch aus CH₂Cl₂/DMF (Einträge 1, 2 und 8), in THF (Einträge 3 und 6), in MeCN (Eintrag 4), oder in CH₂Cl₂ (Eintrag 5) durchgeführt wurde und die Lösungsmittel zuvor entgast. Wurde die Lösung aus PyBOP und EtNiPr₂ direkt zum Rückstand nach der Tritylentschützung gegeben (Einträge 3-5), konnte über HPLC und LC-MS neben diversen anderen Signalen und Massen auch die Bildung des Produktes detektiert werden. Erfolgte das Zutropfen der Lösung der ω-Mercaptocarbonsäure **138** in CH₂Cl₂/DMF zur Reaktionsmischung über 40 min (Eintrag 1), konnte eine Ausbeute von etwa 36% erhalten werden. Nach Zutropfen von Lösungen des linearen Vorläufers sowie von PyBOP und HOBt in CH₂Cl₂/DMF über 4 h zu einer Lösung von EtNiPr₂ in CH₂Cl₂ konnte Makrozyklus **122** in einer Ausbeute von 15% erhalten werden (Eintrag 2). In THF und mit einem höheren Überschuss an Aktivierungsreagenz (3, bzw. 6.8 Äquiv.), Base (5,

bzw. 10 Äquiv.) sowie einer Verdünnung von 1, oder 0.1 mM und langsamem Zutropfen der Lösung von ω -Mercaptocarbonsäure **138** zur Reaktionslösung (Eintrag 6), oder der Lösung von PyBOP und EtNiPr₂ zum linearen Vorläufer **138** (Eintrag 7), wurde Thiolacton **122** in 8-39%iger Ausbeute erhalten. Durch paralleles Zutropfen der Lösungen des linearen Vorläufers **138** und PyBOP, jeweils in CH₂Cl₂/DMF, über 4 h zu einer Lösung aus EtNiPr₂ in CH₂Cl₂ (Eintrag 8) konnte die Ausbeute der Makrozyklisierung auf 88% gesteigert werden. Das Makrothiolacton **122** wurde dabei jeweils als Epimerengemisch erhalten. Dies korrelierte somit mit der in Kapitel 4.2 aufgestellten Vermutung, dass bei der Zyklisierung zu Oxazolin **98** eine Razemisierung des stereogenen Zentrums in α -Position zum Thiazol erfolgte. Da dieses Strukturelement bei der Darstellung des zentralen Thiazols **121** jedoch planarisiert werden sollte, wurden keine weiteren Untersuchungen zur Unterdrückung der Razemisierung durchgeführt.

Neben geringen Ausbeuten waren die Verunreinigung des Startmaterials mit PPh₃ aus der Allylesterspaltung mit Pd(PPh₃)₄ sowie die geringe Löslichkeit des entstandenen Makrozyklus in vielen organischen Lösungsmitteln und in wässrigen Systemen problematisch. Dies erschwerte die Säulenchromatographie an Kieselgel sowie die Isolierung über präparative HPLC. Das erhaltene Substanzgemisch musste daher mittels zweifacher Säulenchromatographie sowie unter Verwendung unterschiedlicher Eluentengemische gereinigt werden (Petrolether/Aceton, dann Aceton und anschließend CH₂Cl₂/MeOH). Besonderes Augenmerk musste dabei auf die kurze Verweildauer bei der Elution mit CH₂Cl₂/MeOH gelegt werden, da die Nucleophilie des Methylalkohols zur raschen Ringöffnung und Bildung des Methylesters **139** führte. Letzteres Phänomen konnte durch die Verwendung von *i*PrOH vollständig unterdrückt werden, sodass dieser Alkohol für diesen Reinigungsschritt präferiert wurde.

Nach erfolgreicher Darstellung des Makrothiolactons **122** aus dem linearen Vorläufer **138** sollte im Folgenden überprüft werden, ob ω -Mercaptocarbonsäure **138** über ein Eintopfverfahren direkt in Thiazolin **140** überführt werden kann (Abbildung 4.25).

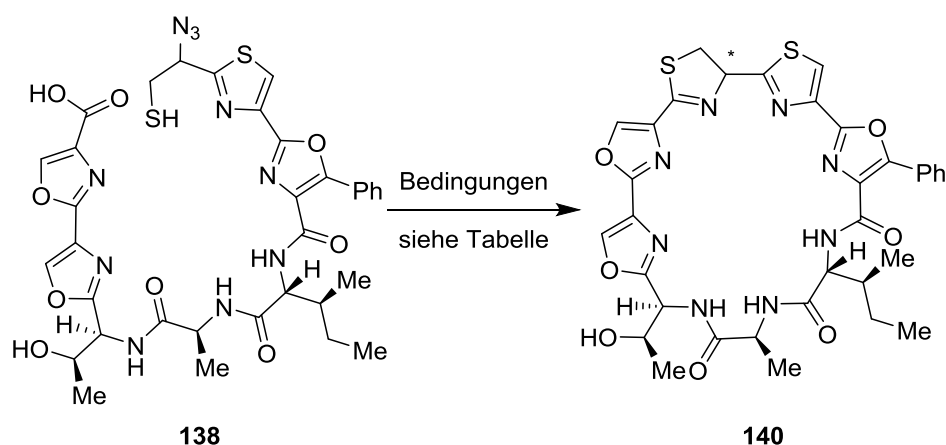


Abbildung 4.25: Eintopfverfahren zur Darstellung des Thiazolins **140** aus dem linearen Vorläufer **138**. Bedingungen siehe Tabelle 4.8.

Tabelle 4.8: Thiazolin **140** wurde jeweils als Diastereomerengemisch erhalten; jede Reaktion wurde in Gegenwart von 1.5 Äquiv. PPh_3 durchgeführt. a) eine Lösung von Azid **138** wurde nacheinander mit Aktivierungsreagenz, EtNiPr_2 und PPh_3 versetzt; b) Aktivierungsreagenz und EtNiPr_2 wurden im entsprechenden Lösungsmittel vorgelegt und eine Lösung von Carbonsäure **138** über 4 h zugetropft, 5 h später wurde PPh_3 zugegeben; c) Lösungen von Thiol **138** und dem Aktivierungsreagenz wurden über 4 h zu einer Lösung von EtNiPr_2 zuge tropft, danach erfolgte die Zugabe von PPh_3 ; d) Lösungsmittel wurde nicht entgast; e) Analyse per HPLC; f) Analyse per LC-MS; g) nach 12 d Zugabe von 4 Å MS; h) Ansatzgröße: 19 mmol; i) Ansatzgröße: 93 mmol.

Eintrag	Bedingungen (Äquiv.)	Zeit	Temperatur	Bemerkung/ Beobachtung
1	PyBOP (1.6), EtNiPr_2 (2), THF (0.8 mM) ^a	24 h	−10 °C nach 40 °C	7% 121 ^{d, e}
2	HATU (1.2), EtNiPr_2 (2), THF (0.8 mM) ^a	24 h	−10 °C nach 40 °C	4% 121 ^{d, e}
3	HBTU (1.2), EtNiPr_2 (2), THF (0.8 mM) ^a	24 h	−10 °C nach 40 °C	5% 121 ^{d, e}
4	<i>i</i> Butylchloroformiat (1.2), EtNiPr_2 (2), THF (0.8 mM) ^a	24 h	−10 °C nach 40 °C	140 nicht gebildet ^{d, e}
5	HATU (4), HOAt (4), EtNiPr_2 (6), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (19:1, v/v; 1.9 mM) ^b	19 h	RT nach 40 °C	140 nicht gebildet ^{d, f}
6	PyBOP (1.6), HOBt (1.6), EtNiPr_2 (2), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (19:1, v/v; 1.6 mM) ^c	21 h	RT nach 45 °C	30%, enthält 121 und OPPh_3 ^{d, h}
7	PyBOP (1.6), HOBt (1.6), EtNiPr_2 (2), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (22:3, v/v; 1.6 mM) ^c	16 h, 3.5 d, 8 d	RT nach 45 °C, dann 50 °C, dann 60 °C	17% ^{d, g, i}

Neben den bereits verwendeten Methoden zur Makrozyklisierung von Thiolacton **122** (Tabelle 4.8, Einträge 1 und 6) wurden für die Aktivierung der Carbonsäure ebenfalls HATU (Eintrag 2), HBTU (Eintrag 3), *i*Butylchloroformiat (Eintrag 4) sowie HATU und HOAt (Eintrag 5) getestet. Interessanterweise konnten unter den untersuchten Bedingungen Spuren (4-7%, Einträge 1-3) an Thiazol **121** in HPLC und LC-MS detektiert werden. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass aufgrund der nicht durchgeführten Entgasung des THF, letzteres geringe Mengen an O₂ enthielt, welches zur Oxidation des Thiazols **140** führte.

Die Verwendung von *i*Butylchloroformiat und HATU, HOAt (Einträge 4 und 5) als Kopplungsreagenzien führten nicht zur Bildung des Makrozyklus. Dagegen konnte Thiazolin **137** über PyBOP und HOBt in Ansatzgrößen von 19 und 93 mmol mit einer Ausbeute von 30, bzw. 17% erhalten werden (Eintrag 6, bzw. 7).

Eine vollständige Abtrennung von Nebenprodukten sowie geringer Mengen an OPPh₃ und Thiazol **121** war durch mehrfache Chromatographie mit Petrolether/Aceton, Aceton, CH₂Cl₂/MeOH sowie über präparative HPLC mit H₂O/MeCN nicht möglich. Ebenfalls problematisch bei der Isolierung dieses Makrozyklus war, dass dieser über eine noch geringere Löslichkeit in organischen und wässrigen Lösungen verfügte, als Makrothiolacton **122**. Demnach wurde von dieser Strategie abgesehen. Stattdessen sollte Thiazol **121**, aufgrund der sehr guten Ausbeute der Makrozyklisierung (Tabelle 4.7, Eintrag 8) und um die geringe Löslichkeit und die Isolierung des Thiazolins **140** zu umgehen, über eine Eintopfsynthese aus Thiolacton **122** dargestellt werden (Abbildung 4.26). Die für letztere untersuchten Bedingungen sind in Tabelle 4.9 aufgeführt.

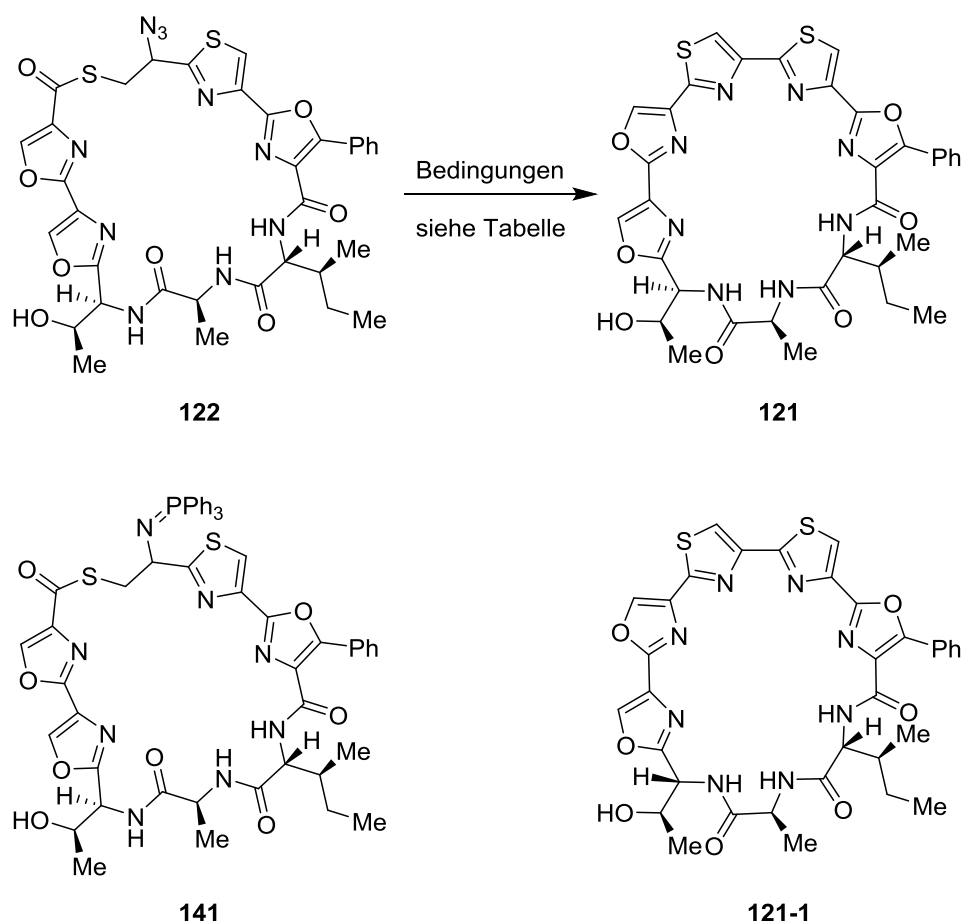


Abbildung 4.26: Eintopfverfahren zur Darstellung des Pentaazols **121** aus Thiolacton **122**. Die untersuchten Bedingungen wurden in Tabelle 4.9 zusammengefasst.

Tabelle 4.9: Bedingungen zur Eintopfsynthese von Thiazol **121** ausgehend von Makrothiolacton **122**. a) erneute Zugabe Reagenzien nach 24 h; b) erneute Zugabe Reagenzien nach 4 h; c) vor Zugabe der Oxidationsmittel war noch Iminophosphoran **141** vorhanden; d) isolierte Ausbeute; e) LC-MS.

Eintrag	Bedingungen (Äquiv.)	Zeit	Temperatur	Beobachtung/ Bemerkung
1	PPh ₃ (3 + 1.5), DBU (5.4 + 2.7), BrCCl ₃ (3.2 + 1.6), 1,2-Dichlorethan ^a	3 h,	40 °C	121 vorhanden, Spuren an 12 ^{c, e}
		22 h,	nach 60 °C	
		13 h	nach 70 °C	
2	PPh ₃ (3 + 1.5), DBU (5.4 + 2.7), CBr ₄ (3.2 + 1.6), 1,2-Dichlorethan ^a	3 h,	40 °C	121 vorhanden, Spuren an 12 ^{c, e}
		22 h,	nach 60 °C	
		13 h	nach 70 °C	
3	PPh ₃ (1.2), DBU (1.5 + 1.5), BrCCl ₃ (1.2 + 1.2), 4 Å MS, 1,2-Dichlorethan ^b	4 h,	60 °C	36%, DBU enthalten ^d
		19 h	nach RT	
4	1) PPh ₃ (1.5), 2,6-Lutidin 2) DBU (1.5), BrCCl ₃ (1.2), CH ₂ Cl ₂	1) 6.5 h	1) 60 °C	56% 121/121-1 (2:1) ^d
		2) 6 h	2) –50 °C nach RT	
5	1) PPh ₃ (1.5), 2,6-Lutidin 2) DBU (1.5), BrCCl ₃ (1.2), CH ₂ Cl ₂	1) 7 h	1) 60 °C	79% 121 ^d
		2) 8 h	2) –70 °C nach RT	

Erfolgte das Eintopfverfahren aus Aza-Wittig-Reaktion und Oxidation ohne Austausch des Lösungsmittels (Einträge 1 und 3), konnte nach Oxidation mit DBU und BrCCl_3 , bzw. CBr_4 nach längerer Reaktionszeit neben Pentaazol **121** auch die Masse des Eliminierungsproduktes Urukthapelstatin A (**12**) detektiert werden (Einträge 1 und 2). Längere Reaktionszeiten oder erneute Zugabe der Reagenzien führten dabei nicht zur Bildung größerer Mengen des Enamids **12**. Die vollständige Umsetzung des intermediär gebildeten Iminophosphorans **141** konnte wie bereits in Abbildung 4.25 und Tabelle 4.9 gezeigt durch Zugabe von aktiviertem Molekularsieb (4 Å) verbessert werden. Hieraus konnte Pentaazol **121** mit einer Ausbeute von etwa 36% erhalten werden.

Wurde die Aza-Wittig-Reaktion in 2,6-Lutidin durchgeführt, das Lösungsmittel entfernt und die Oxidation bei tiefen Temperaturen und unter langsamem Aufwärmen der Reaktionsmischung in CH_2Cl_2 durchgeführt (Einträge 4 und 5) wurde Pentaazol **121** mit einer Ausbeute von 56% (Eintrag 4), bzw. 79% (Eintrag 5) erhalten. Darüber hinaus konnten die zuvor am Threonin gebildeten Epimere auf dieser Stufe leicht über Säulenchromatographie getrennt werden, wobei das bereits beobachtete Epimerenverhältnis von 2:1 ebenfalls bestätigt werden konnte (Tabelle 4.9, Eintrag 4). Neben der Oxidation mit DBU und BrCCl_3 (oder CBr_4) konnte Thiazolin **140** aus Thiazol **121** auch durch Reaktion mit DDQ (1.5 Äquiv.)^[174] in CH_2Cl_2 innerhalb von 24 h mit einer Ausbeute von 60% (inkl. geringer Mengen an OPPh_3) erhalten werden. Basierend auf der höheren Ausbeute der „Eintopfreaktion“ (Tabelle 4.9, Eintrag 5), gegenüber der sequenziellen Darstellung mit DDQ sowie der bei letzterer durchgeführten Isolierung des Thiazolins **140**, wurde die direkte Darstellung des Thiazols **121** aus dem Makrothiolacton **122** über Aza-Wittig-Reaktion und anschließende Oxidation mit DBU und BrCCl_3 bevorzugt.

4.7 Untersuchungen zur Selektivität der Eliminierung

Anhand der vorangegangenen Untersuchungen konnte Thiazol **121** erfolgreich dargestellt werden. In der nächsten Stufe sollte die selektive Eliminierung des Alkohols **121** erfolgen. Zuvor wurden jedoch ausgewählte Bedingungen zur gezielten und isomerenfreien Darstellung des Enamids auf einem Testsystem untersucht. Hierzu wurde das, aus der Dissertation von P. Loos^[127] bekannte Oxazol **142** leicht modifiziert. Die Synthese des Oxazols **142** sowie die vorgenommene Modifikation sind in Abbildung 4.27 dargestellt.

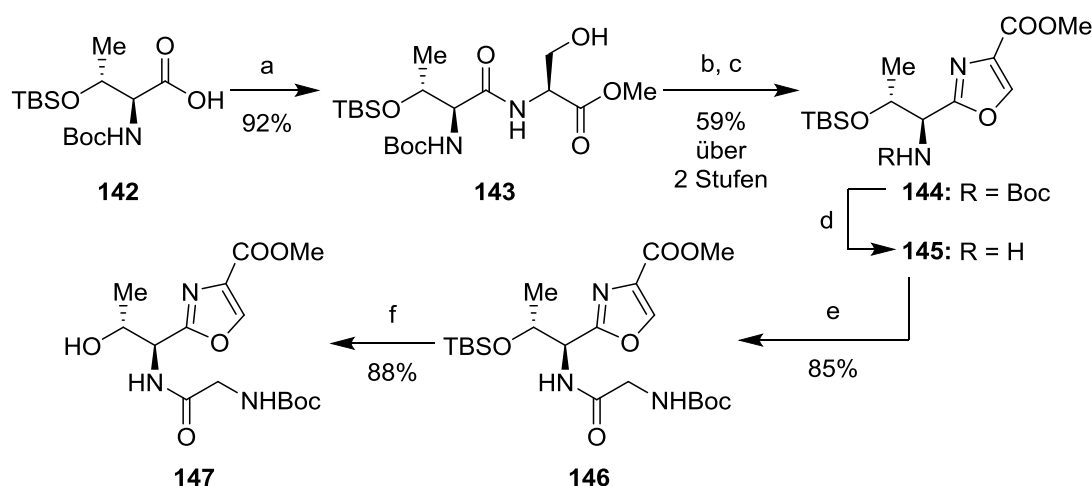


Abbildung 4.27: Darstellung des Oxazolalkohols **147**. Bedingungen: a) *L*-Ser-OMe x HCl, HOBt, EDC x HCl, NEt₃, CH₂Cl₂/DMF (50:1, v/v), 0 °C nach RT, 18 h; b) Burgess-Reagenz, THF, RT nach 70 °C, 12 h; c) DBU, BrCCl₃, CH₂Cl₂, 0 °C nach RT, 3 h; d) ZnBr₂, CH₂Cl₂, 0 °C nach RT, 3 h, dann 40 °C, 1 h; e) BocHN-Gly-OH, HBTU, HOBt, EtNiPr₂, CH₂Cl₂/DMF (1:1, v/v), 0 °C nach RT, 21 h; f) TBAF (50 Vol.-% in THF), AcOH, THF, 0 °C nach RT, 24 h.

BocHN-Thr(TBS)-OH **142** wurde mit *L*-Ser-OMe x HCl unter Aktivierung mit HOBt und EDC x HCl in guter Ausbeute in Amid **143** überführt. Dieses konnte durch Zyklodehydratisierung mit Burgess-Reagenz und anschließender Oxidation mit DBU und BrCCl₃ mit einer Ausbeute von 59% in das Oxazol **144** überführt werden. Nach Lewis-saurer, quantitativ verlaufender Spaltung der Boc-Gruppe^[175] konnte das erhaltene freie Amin mit BocHN-Gly-OH in sehr guter Ausbeute zu Amid **146** umgesetzt werden (85%). Amid **146** wurde anschließend mit TBAF und AcOH entschützt und der für die Eliminierung benötigte Alkohol **147** in 88%iger Ausbeute erhalten.^[176]

Zur Darstellung des *Z*-, bzw. *E*-Enamids **149**, bzw. **149-1** (Abbildung 4.28) wurden die in Tabelle 4.10 zusammengestellten Bedingungen untersucht.

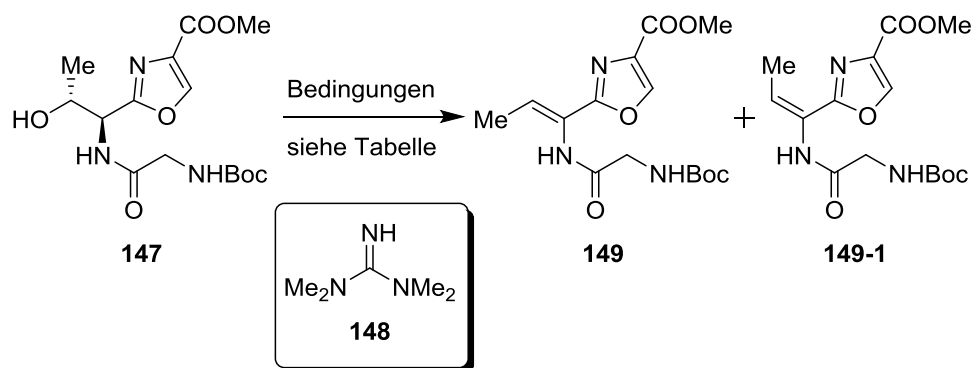
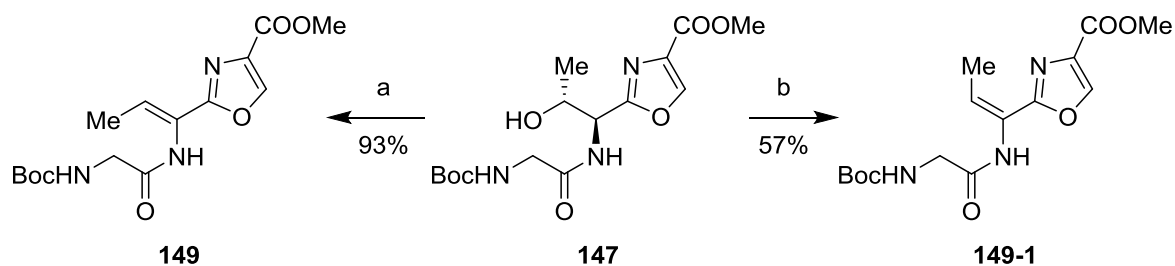


Abbildung 4.28: Selektive Darstellung der Enamide **149** und **149-1**. Bedingungen siehe Tabelle 4.10.

Tabelle 4.10: Bedingungen zur selektiven Darstellung der Enamide **149** und **149-1**.

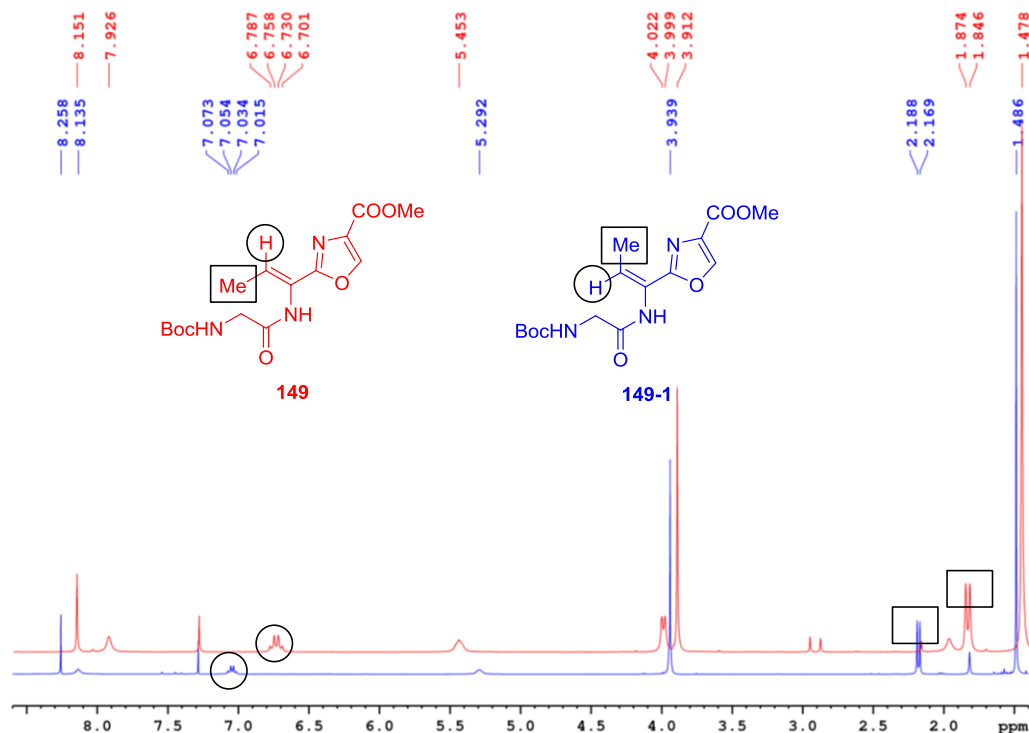
Eintrag	Bedingungen (Äquiv.)	Temperatur	Zeit	Bemerkung/ Beobachtung (HPLC)
1 ^[177]	CuCl ₂ (0.8), EDC (10), Toluol	80 °C	30 min	149/149-1 11:89
2 ^[178]	DMAP (0.5), Boc ₂ O (5), MeCN, dann 148 (2 Vol.-%)	RT	18 h	keine Eliminierung
3 ^[179]	DAST (7.5), CH ₂ Cl ₂ , dann Pyridin (20)	-10 °C nach 10 °C	1.5 h	149 und Nebenprodukte
4 ^[180]	MsCl (1.8), NEt ₃ (3), CH ₂ Cl ₂ , dann DBU (3)	RT	2 h	149/149-1 97:3
5 ^[181]	CuCl (7), EDC x HCl (1.7), CH ₂ Cl ₂ /DMF (96:4, v/v)	RT	1 d	149/149-1 4:96

Die Umsetzung des Alkohols **147** mit CuCl₂ und EDC in Toluol bei 80 °C^[177] (Eintrag 1), lieferte das Produkt **149-1**, wobei ein Isomerenverhältnis von 1:9 (*E/Z*) erhalten wurde. Keine Eliminierung konnte mit DMAP, Boc₂O und 1,1,3,3-Tetramethylguanidin (**148**) in MeCN^[178] beobachtet werden (Eintrag 2). Unter Verwendung von DAST und Pyridin in CH₂Cl₂^[179] (Eintrag 3) bei etwa 0 °C, konnte neben der Eliminierung zum *Z*-Enamid **149** die Bildung einiger Nebenprodukte beobachtet werden. Im Einklang mit den in der Literatur berichteten Daten, lieferte die Umsetzung mit MsCl und NEt₃ in CH₂Cl₂ und anschließender Behandlung mit DBU^[180] selektiv das *anti*-Eliminierungsprodukt und somit das *Z*-Isomer **149** (*Z/E* > 95:5, Eintrag 4). Eine entgegengesetzte Selektivität konnte zudem mit CuCl und EDC x HCl in einem CH₂Cl₂/DMF-Gemisch^[181] erhalten werden (*E/Z* > 95:5, Eintrag 5). Auch war die Trennung der beiden Stereoisomere über Säulenchromatographie möglich. Beim Wiederholen der beiden letzten Umsetzungen im größeren Maßstab, konnten die Ergebnisse reproduziert, die Ausbeuten bestimmt (Abbildung 4.29) und die Identität der erhaltenen Isomere über ¹H-NMR und NOESY-Experimente bestätigt werden.

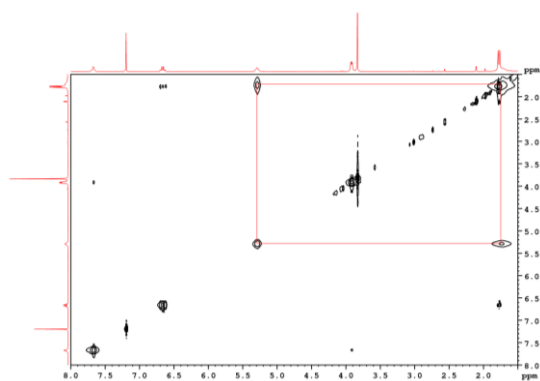
**Abbildung 4.29:** Selektive Darstellung der Enamide **149** und **149-1**. Bedingungen: a) MsCl, NEt₃, DBU, CH₂Cl₂, RT, 2 h; b) CuCl, EDC x HCl, CH₂Cl₂/DMF (96:4, v/v), RT, 24 h.

Dabei konnten, in Anlehnung an die Synthese von Lin *et al.*,^[139] die gebildeten Isomere über die chemische Verschiebung der terminalen Methylgruppen (um 2 ppm) und des olefinischen Protons (um 7 ppm) unterschieden werden (Abbildung 4.30).

a



b



c

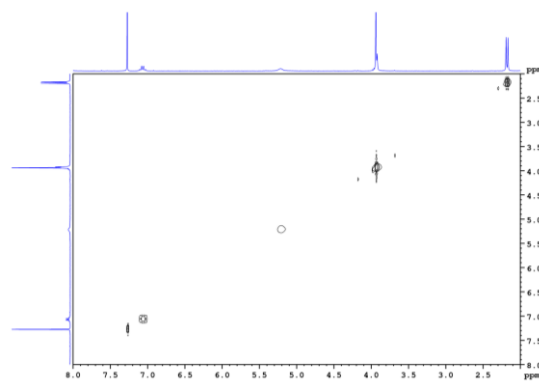


Abbildung 4.30: Die erhaltenen NMR-Daten der Isomere **149** (rot) und **149-1** (blau). a) ^1H -Spektren des *Z*-Isomers **149** (rot) und des *E*-Isomers **149-1** (blau), die chemischen Verschiebungen des olefinischen Protons bei 6.74 ppm (*Z*), bzw. 7.03 ppm (*E*) sowie der Methylgruppe bei 1.85 ppm (*Z*), bzw. 2.16 ppm (*E*) waren gut zu unterscheiden und stimmten mit den für Urukthapelstatin A (**12**) publizierten überein.^[139] b) NOESY-Spektrum des *Z*-Isomers **149**; die Wechselwirkung zwischen der terminalen Methylgruppe und der NH-Funktion des Carbamats war gut zu erkennen (rotes Rechteck). c) NOESY-Spektrum des *E*-Isomers **149-1**; neben der Wechselwirkung zwischen der terminalen Methylgruppe und dem olefinischen Proton waren keine weiteren zu erkennen.

4.8 Stereoselektive Synthesen zu Urukthapelstatin A

Urukthapelstatin A (**12**) konnte sowohl über *anti*-selektive Eliminierung aus Pentaazol **121** (*Z/E* > 95:5), als auch über Cu(I) vermittelte Eliminierung des Epimers **121-1** dargestellt werden (Abbildung 4.31). Bei der Dehydratisierung mit MsCl musste, im Gegensatz zur Eliminierung auf dem Testsystem **147**, der gebildete Methansulfonsäureester über wässrige Extraktion, oder Säulenchromatographie isoliert werden. Erfolgte diese Isolierung nicht, konnten nach Reaktion mit DBU neben dem Methansulfonsäureester nur Spuren (< 10%) des Enamids **12** isoliert werden. Die Umsetzung des Pentaazols **121-1** mit CuCl und EDC x HCl erfolgte im Submilligramm-Maßstab, weshalb die Bildung von Urukthapelstatin A (**12**) über dessen Masse und die Retentionszeit auf der HPLC verifiziert wurde.

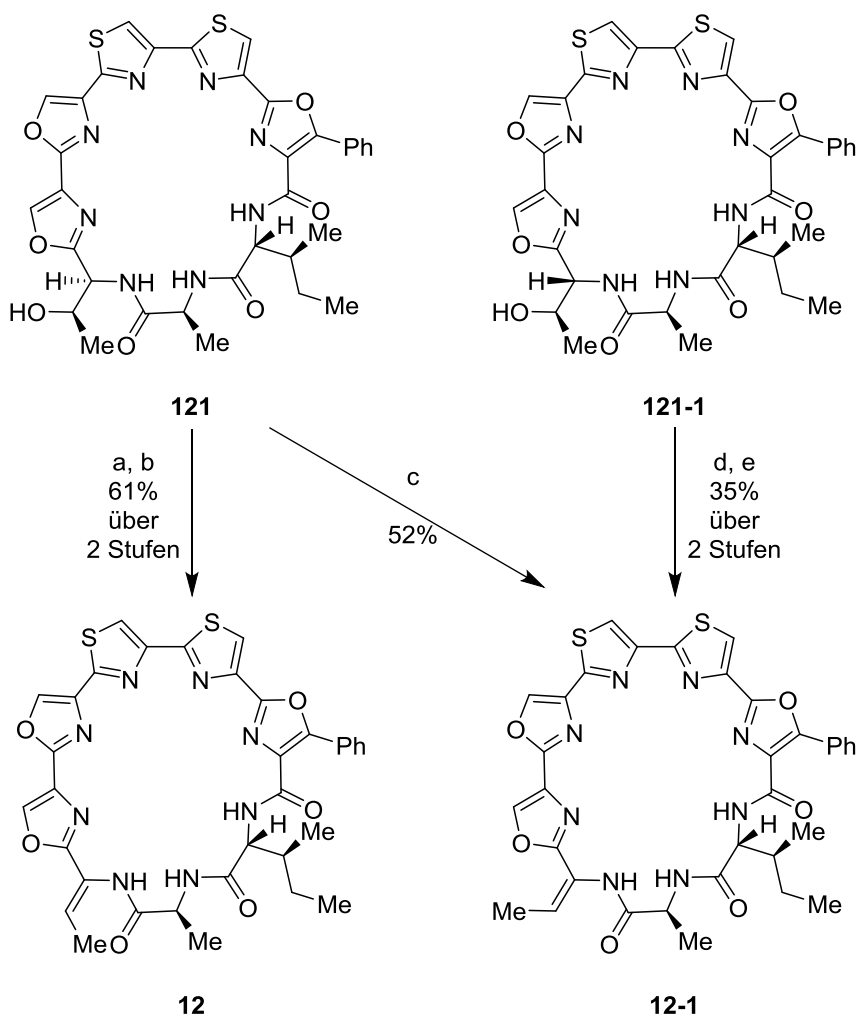


Abbildung 4.31: Selektive Darstellung von Urukthapelstatin A (**12**) sowie dessen *E*-Isomer **12-1** ausgehend von Pentaazol **121**, bzw. dessen Epimer **121-1**. Bedingungen: a) MsCl, NEt₃, CH₂Cl₂, RT, 2.5 h; b) DBU, CH₂Cl₂, RT, 1.5 h; c) CuCl, EDC x HCl, CH₂Cl₂/DMF (96:4, v/v), RT, 30 h; d) MsCl, NEt₃, CH₂Cl₂, RT, 0.5 h, dann DBU, 3.5 h; e) DBU, CH₂Cl₂, RT, 5.5 h.

Nach Dehydratisierung des Alkohols **121** mit CuCl, konnte das entsprechende *E*-Isomer von Urukthapelstatin A (**12-1**) selektiv erhalten werden ($E/Z > 9:1$). Ebenso konnte das Epimer **121-1** mit MsCl und NEt₃ und anschließender Behandlung mit DBU erfolgreich in das *E*-Isomer **12-1** überführt werden. Untersuchungen zur Eliminierung mit Martins Sulfuran^[182] sowie mit CuCl₂ und EDC bei 80 °C über 30 min führten dagegen zu keiner signifikanten Umsetzung des Ausgangsmaterials. Die nach Eliminierung erhaltenen Isomerenverhältnisse zwischen **12** und **12-1** wurden durch HPLC bestimmt und lagen zwischen 9:1 und $> 95:5$ (Z/E).

Verbleibende Spuren an Isomer wurden im Folgenden mittels präparativer HPLC entfernt (Abbildung 4.32).

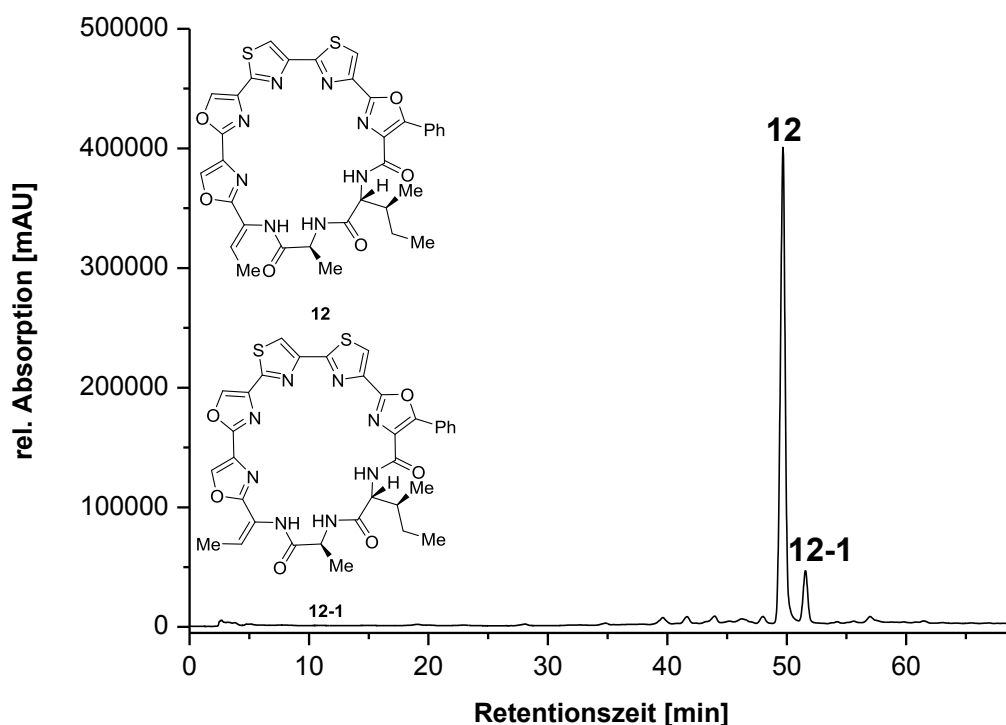


Abbildung 4.32: Präparative HPLC des *Z*-Enamids **12** ($t_R = 49.7$ min) und dessen *E*-Isomer **12-1** ($t_R = 51.6$ min) nach Eliminierung mit MsCl und DBU und Säulenchromatographie. Elution durch H₂O und MeCN, Gradient: 2 min 50% MeCN, 68 min 50-100% MeCN, 2 min 100% MeCN, Flussrate: 25 mL/min.

Interessanterweise zeigten die isolierten Fraktionen nach 24 h eine Anreicherung des in geringeren Mengen vorliegenden Isomers. Dies konnte sowohl für das *E*-, als auch das *Z*-Isomer in wässriger Lösung (H₂O/MeCN), wässrigem TES-Puffer (pH = 7), im Säuren (pH = 5) sowie in organischen Lösungsmitteln (CH₂Cl₂ und CDCl₃) beobachtet werden. Zur Veranschaulichung der über HPLC zu beobachtenden Isomerisierung des Enamids, sind in Abbildung 4.33 Ausschnitte der Chromatogramme von Urukthapelstatin A (**12**) ($t_R = 14.3$ min) (a) sowie dessen *E*-Isomer **12-1** ($t_R = 14.7$ min) (b), direkt nach präpara-

tiver HPLC (schwarzes HPLC-Chromatogramm, $t = 0$ d) und 4 d nach deren Isolierung (blaues HPLC-Chromatogramm, $t = 4$ d) dargestellt.

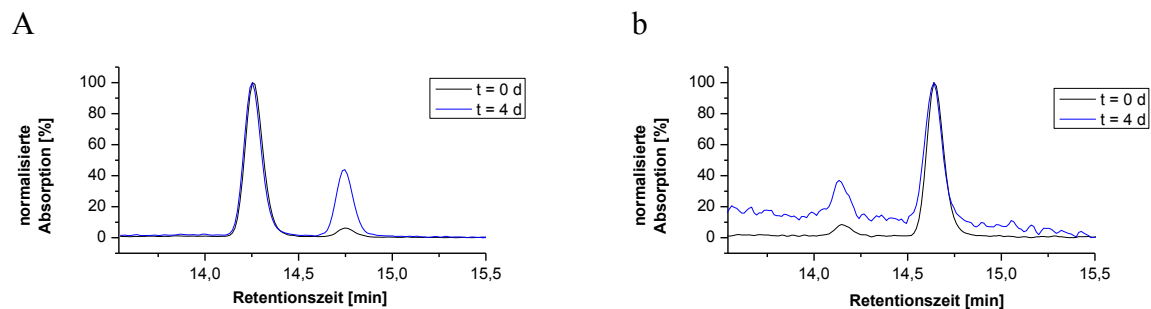


Abbildung 4.33: Ausschnitt der HPLC-Chromatogramme der Enamide **12** ($t_R = 14.3$ min) und **12-1** ($t_R = 14.7$ min). Die HPLC-Chromatogramme wurden jeweils auf die höchste (100%) und niedrigste (0%) gemessene Absorption normiert. a) *Z*-Isomer **12** direkt nach der Isolierung (schwarz; $Z/E = 95:5$) und nach 4 d (blau; $Z/E = 72:28$). b) *E*-Isomer **12-1** direkt nach der Isolierung (schwarz; $Z/E = 8:92$) und nach 4 d (blau; $Z/E = 2:8$).

In beiden Fällen wurden eine Abnahme der Intensität des Hauptisomeres und eine Zunahme des Nebenisomers festgestellt. Eine erneute HPLC-Analyse des *E*-Isomeres **12-1** nach acht Monaten zeigte ein Isomerenverhältnis (Z/E) von 55:45, was darauf schließen lässt, dass die *Z*-Form im Gleichgewicht gegenüber der *E*-Form begünstigt ist.

Ein ähnliches Phänomen wurde für Urukthapelstatin A (unter basischen Bedingungen) und Cyclothiazomycin B1 bereits in der Literatur beschrieben, ist unter neutralen Bedingungen jedoch unerwartet.^[139,183] Eine Isomerisierung der Doppelbindung im Testsystem **149**, bzw. **149-1** sowie auf den linearen Vorstufen während der zuvor publizierten Totalsynthese,^[139] konnte hingegen nicht beobachtet werden. Dies lässt vermuten, dass die Isomerisierung der Doppelbindung erst auf der Stufe des Makrozyklus eintritt. Aufgrund der bei unterschiedlichen pH-Werten ablaufenden Isomerisierung des Enamids ist wahrscheinlich, dass Urukthapelstatin A auch in der Natur als *E/Z*-Gemisch vorliegt.

4.9 Fazit

In diesem Teil der Arbeit konnte eine selektive, biomimetische Totalsynthese von Urukthapelstatin A (**12**) sowie dessen *E*-Isomer **12-1** realisiert werden. Der beschriebene Syntheseweg ist modular aufgebaut und sollte somit die Derivatisierung des Peptidrückrates sowie der Azole erlauben, sofern das mittlere Thiazol für die finalen Schlüsselreaktionen der Makrothiolactonisierung, Aza-Wittig-Reaktion und Oxidation zu Verfügung steht. Des Weiteren konnte die Makrozyklisierung an dieser Stelle sowie die anschließende Darstellung des Thiazols in sehr guten Ausbeuten durchgeführt werden. Durch die Eliminierung

des Alkohols **121** in der letzten Stufe der Totalsynthese waren eine selektive Herstellung der beiden Isomere sowie die damit verbundene Analyse der unerwarteten Isomerisierung möglich. Diese war zuvor^[139] nur in CH₂Cl₂ in Gegenwart von 9.5 Äquiv. DBU über Nacht beschrieben worden. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch gezeigt werden, dass die Isomerisierung der Enamidstruktur in Urukthapelstatin A (**12**) sowohl im Säuren (pH = 5), als auch im Neutralen, bzw. im gepufferten System (TES-Puffer) erfolgte, wenn auch recht langsam. Aufgrund der Beobachtung, dass das Isomerenverhältnis des zuvor *E*-selektiv dargestellten Isomeres **12-1** nach acht Monaten leicht auf der Seite des *Z*-Isomeres **12** lag, scheint das *Z*-Isomer **12** energetisch günstiger zu sein. Letztere Beobachtung ist außerdem im Einklang mit den für Cyclothiazomycin B1 berechneten Energien des darin vorliegenden *Z*- bzw. *E*-Enamids.^[183]

5 Selektive Modulation von Sirtuinen

5.1 Sirtuine

5.1.1 Isoformen

Die temporäre Acylierung der Lysin-Seitenketten von Proteinen stellt eine wichtige Möglichkeit zur Regulierung von Protein-Protein-Wechselwirkungen, der Erkennung von DNS-Bindungsstellen oder der katalytischen Aktivität und Stabilität von Proteinen dar.^[184-186] Mit etwa 6800 Acetylierungsstellen-aufweisenden Proteinen ist die Acetylierung die häufigste in eukaryotischen Zellen vorkommende posttranslationale Modifikation.^[187-190] Im Mitochondrium verfügen etwa 20% der bekannten Enzyme über eine Acetylierungsstelle, 65% davon sind im Metabolismus dieser Organelle involviert.^[191] Die Deacetylierung erfolgt durch Histondeacetylasen (HDACs), wobei HDACs der Klassen I, II und IV primär mit Aminosäuren der Seitenketten der Histone über einen Zn^{2+} -abhängigen Mechanismus interagieren. Nicht-Histon-Substrate werden zumeist von HDACs der Klasse III, den Sirtuinen, über einen NAD^+ -abhängigen Mechanismus deacetyliert.^[192-194] In allen phylogenetischen Domänen verfügen Sirtuine über eine hoch konservierte Sequenz und Struktur.^[194-197] Anhand von phylogenetischen Untersuchungen der katalytischen Domäne, werden die Sirtuine in 4 Subklassen unterteilt.^[198-200] Sirt1, Sirt2 und Sirt3 sowie das erste, während der Genomkartierung in *Saccharomyces cerevisiae* gefundene Ortholog Sir2 (*silent information regulator*),^[201-203] gehören zur Subklasse I, diese zeigen die höchste Deacetylaseaktivität.^[198,200,204] Die Sirtuine Sirt4 und Sirt5 wurden den Subklassen II, bzw. III, die Sirtuine Sirt6 und Sirt7 der Subklasse IV zugeordnet.^[198] Neben diesen 4 Subklassen wurde die Subklasse U für Sirtuine mit ungewöhnlichen Eigenschaften definiert.^[198,199,205] Die den Subklassen I-IV zugeordneten Sirtuine Sirt1-Sirt7 bilden dabei die 7 Isoformen der Familie der Säugetiere.^[192,198,205] In den letzten Jahrzehnten wurde über viele, durch Sirtuine regulierte, zelluläre Funktionen berichtet.^[192,200,204,206-208] Anhand von Studien zu Fehlfunktionen dieser Deacetylasen konnten diese mit einer Vielzahl von Krankheiten, wie Krebs,^[209,210] Diabetes, Fettleibigkeit, oder neurodegenerativen Erkrankungen^[211] in Zusammenhang gebracht werden.^[192] Ein Überblick der 7 humanen Isoformen und deren derzeit bekannten Substrate gibt Tabelle 5.1.

Tabelle 5.1: Darstellung bekannter Substrate und enzymatischen Aktivitäten der 7 Säugetierisoformen der Sirtuine, entnommen aus dem Übersichtsartikel von Poulouse und Raju.^[192]

Isoform	Enzymatische Aktivität	Substrate
Sirt1	Deacetylase, ADP-Ribosyltransferase	Histone H1, H3 und H4; p53, NF- κ B, FOXO4, PGC1 α , HIF1 α , HIF2 α , CTIP2, Tat, p300, LXR, eNos, MEF2, Notch1, Ku70, XPA, WRN, NBS1, LKB1, AceCS1, HMGCS1, c-Myc, androgener Rezeptor, SUV39H1, BMAL1, Per2, DNMT1, hMOF, TIP60, Cortactin, PARP1, SREBP-1C, SATB1, RFX-5, TDG, FOXA2, IRF-1, HMGB1, PGAM1, CRABP1, TopBP1, PML
Sirt2	Deacetylase, De-myristoylase	Histone H4 und H3; Tubulin, FOXO1, FOXO3A, p53, p300, p65, PEPCK1, Par-3, CDK9, HIF1 α , G6PD, PGAM, ALDH1A1, TUG, BubR1, β -Secretase 1
Sirt3	Deacetylase	AceCS2, HMGCS2, LCAD, SDH, Ku70, SOD2, IDH2, GDH, LKB1, MRPL10, LCAD, ATP Synthase F1, Cyclophilin D, OTC, ALDH2, Skp2, FOXO3, PDH, OGG1, OPA1, Hsp10, GOT2, MDH, Aconitase 2
Sirt4	ADP-Ribosyltransferase, Deacetylase, Lipoamidase	GDH, MCD, PDH, Hsp60, Stress-70, Nnt
Sirt5	Deacetylase, Demalonylase, Desuccinylase, Deglutarylase	Cytochrom C, CPS1, SOD1, Uratoxidase, PML, VLCAD, Prx-1, HMGCS2, Hsp70, MCAD
Sirt6	Deacetylase, De-myristoylase, ADP-Ribosyltransferase	Histon H3, TNF α , CtIP, PARP1, GCN5, KAP1, GEN1, Kup86, p70
Sirt7	Deacetylase	Histon H3, PAF53, GABP β 1, p53, MEF-2C, DNS-PK

Das 62 kDa große Sirt1 ist die am besten untersuchte Isoform.^[206] Primär im Zellkern vorkommend (Abbildung 5.1) verfügt Sirt1 neben der Deacetylase- auch eine schwache ADP-Ribosyltransferase-Aktivität.^[192,194,212-214] Sirt1 reguliert die Transkription^[215] sowie die Stilllegung von Genen und epigenetischen Faktoren.^[216,217] Im Zytosol beeinflusst Sirt1 den Metabolismus.^[218] Im Organismus ist Sirt1 an der Regulierung der Embryonalentwicklung,^[219,220] der Differenzierung der Skelettmuskulatur^[221] sowie der oxidativen Phosphorylierung,^[222] der Glycolyse, der Gluconeogenese,^[223] der Fettsäureoxidation^[224] und der Entzündungsreaktion^[200] beteiligt.

Sirt2 liegt primär im Zytosol vor und reguliert dort den Grad der Acetylisierung des α -Tubulins, der Mikrotubuli^[225,226] sowie des Koaktivators p300.^[226-228] Während der G₂/M-Phase der Mitose^[229,230] wird dieses 41.5 kDa große Enzym^[206] in den Zellkern

transportiert,^[200] und bewirkt dort primär die Deacetylierung des Histons 4.^[229,231,232] Bekannte Funktionen dieser Isoform sind die Regulation des Zellzyklus, der Entwicklung der Gliazellen, der Dynamik der Mikrotubuli sowie die Instandhaltung der axonalen Integrität in neuronalen Netzwerken.^[205,233,234] Eine Beteiligung am Insulinsignalweg wurde ebenfalls berichtet.^[235] Weitere bisher bekannte Funktionen von Sirt2 wurden in dem Übersichtsartikel von Gomes *et al.* zusammengestellt.^[236]

Sirt3 ist die wichtigste bisher bekannte Deacetylase des Mitochondriums^[187,237] und reguliert dort essentielle Funktionen des mitochondrialen Metabolismus, wie beispielsweise die Atmungskette, die β -Oxidation von Fettsäuren, den Zitratzyklus oder die Ketogenese.^[206,238,239] Der Schutz dieses Organells vor endogenen und exogenen Stressfaktoren sowie die Regulation dessen basaler ATP-Konzentration wurden ebenfalls dieser Isoform zugeordnet.^[206,238-241] Eine Auswahl weiterer derzeit bekannter Funktionen von Sirtuin 3 findet sich bei Ansari *et al.* sowie bei Gertz und Steegborn.^[242,243]

Die Isoformen 4 und 5 sind ebenfalls mitochondrial lokalisiert (Abbildung 5.1) und regulieren die Aktivität der metabolisch aktiven Enzyme sowie die mitochondriale Stressantwort.^[192,200,244-246] Für Sirt4 konnte bisher nur eine ADP-Ribosyltransferase-Aktivität nachgewiesen werden.^[192,200,206] Sirt5 ist maßgeblich an der Ammoniak-Entgiftung beteiligt^[247,248] und verfügt neben der Acetylase auch über eine Malonylase-, Succinylase- und Glutarylase-Aktivität.^[249-252]

Die Sirtuine Sirt6 und Sirt7 sind wie Sirt1 im Zellkern lokalisiert und beeinflussen die Stabilität der Chromosomen sowie die Aktivität der Transkription verschiedener Gene.^[200,205,212] Sirt6 weist sowohl eine Deacetylase-, als auch eine schwache ADP-Ribosyltransferase-Aktivität auf.^[213,218,253] Diese Isoform moduliert die Stabilität des Genoms und der Telomere, die Initialisierung der Reparatur der DNS sowie die Aktivität des nährstoffabhängigen Metabolismus. Sirt7 fungiert als Regulator für die Transkription der ribosomalen RNS sowie des Zellzyklus.^[197,206]

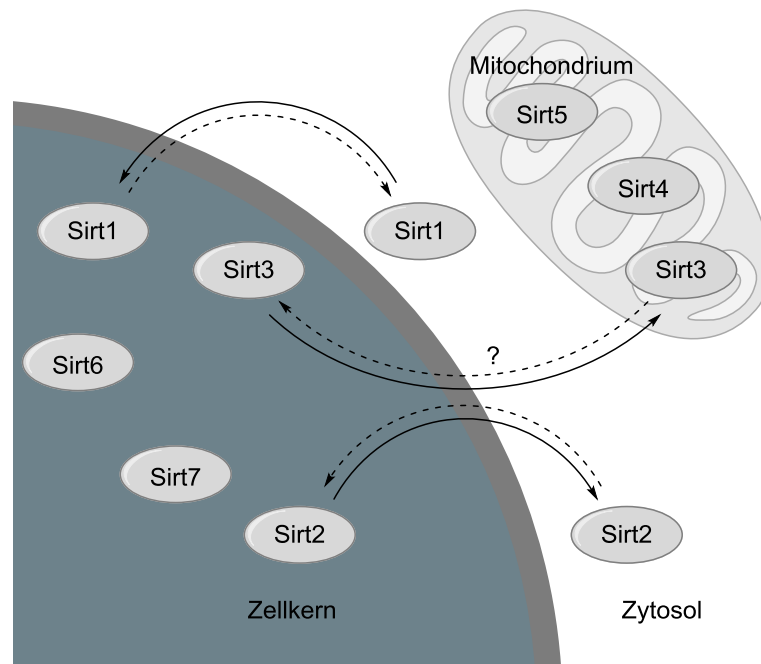


Abbildung 5.1: Lokalisierung und Transfer der 7 Säugetierisoformen der Sirtuine innerhalb der Zelle.

5.1.2 Katalytische Aktivität

Der konservierte Kern der Sirtuinstruktur besteht aus etwa 250 Aminosäuren und aus zwei Domänen.^[254,255] Nur die C- und N-terminalen Reste sowie die Lokalisierung innerhalb der Zelle unterscheiden die einzelnen Isoformen voneinander.^[198,254] Der allen Sirtuinen gemeinsame Kern (Abbildung 5.2) besteht aus der großen NAD^+ -bindenden Domäne sowie einer Zn^{2+} -bindenden Domäne. Die für NAD^+ -bindende Proteine typische Rossmann-Faltung bildet die Bindungsstelle (A) für die Adenosinribose, für den Nicotinamidribose-Rest (Bindungsstelle B) sowie für das Nicotinamid (Bindungsstelle C).^[197,243,256] Wegen der räumlichen Distanz zum aktiven Zentrum wird spekuliert, dass die Zn^{2+} -bindende Domäne als strukturgebendes Element bei der räumlichen Anordnung der aktiven Tasche und der NAD^+ -bindenden Domäne fungiert.^[257] Für eine Hydrolase ist der Reaktionsmechanismus der Sirtuine äußerst ungewöhnlich, da zum Zweck der Hydrolyse der Redox-Kofaktor NAD^+ der Zelle verbraucht wird.

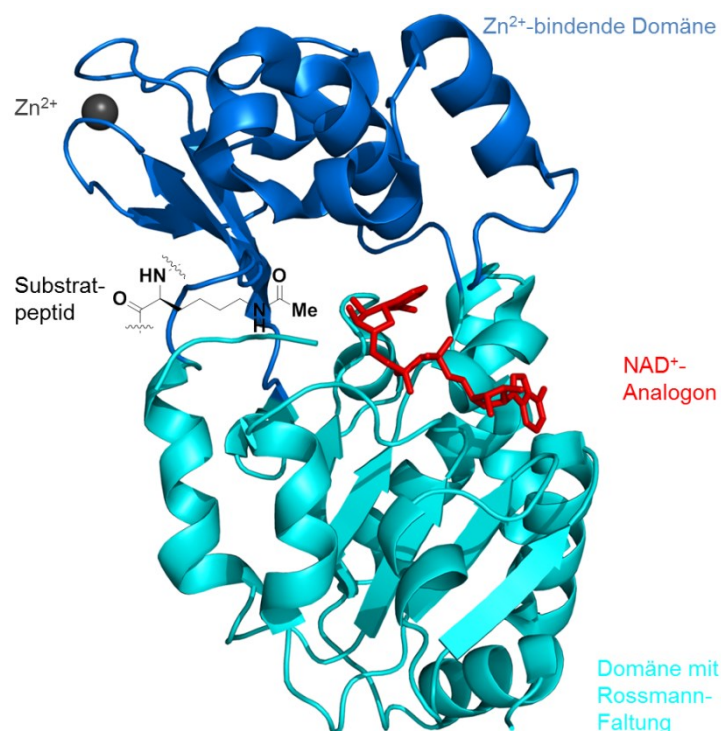


Abbildung 5.2: Struktur des humanen Sirt3, hier als Bänder-Struktur dargestellt, bestehend aus der Zn^{2+} -bindenden Domäne (dunkelblau) mit Zn^{2+} -Ion (grau) sowie der Domäne mit Rossmann-Faltung (türkis), im Komplex mit einem NAD^+ -Analogon (rot). Die Substratbindetasche wurde durch einen acetylierten Lysin-Rest angedeutet (schwarz). PDB: ID 4FVT.

Wie in Abbildung 5.2 dargestellt, erreichen NAD^+ und das acetylierte Substrat das katalytisch aktive Zentrum von entgegengesetzten Seiten.^[254,255,257,258] Durch Bindung des Peptids werden die Kavitäten geschlossen^[259-261] und über die Anlagerung des NAD^+ erfolgt die Ausbildung der Kofaktor-bindenden Schleife.^[254,262] Nach Bildung des Alkylimidat-Intermediats **153** (Abbildung 5.3) zwischen der ADP-Ribose und dem Sauerstoff der Acetylgruppe,^[263] bindet der Nikotinamidrest des NAD^+ durch Konformationsänderung in der konservierten Bindungstasche C.^[254,262] Mit der Dissoziation des Nikotinamids (**152**) aus dieser Bindungsstelle und einer weiteren strukturellen Änderung der Kofaktor-bindenden Schleife, lagert das Intermediat **153** in die bizyklische Form **154** um. Durch Hydrolyse des Orthoamids **154** entstehen neben dem deacetylierten Polypeptid **156** die 2'-O-Acetyl-ADP-Ribose (**155**).^[264] Aufgrund des Transfers der Acetylgruppe auf die 2'-OH-Position Ribose werden Sirtuine auch als Acetyltransferasen bezeichnet.

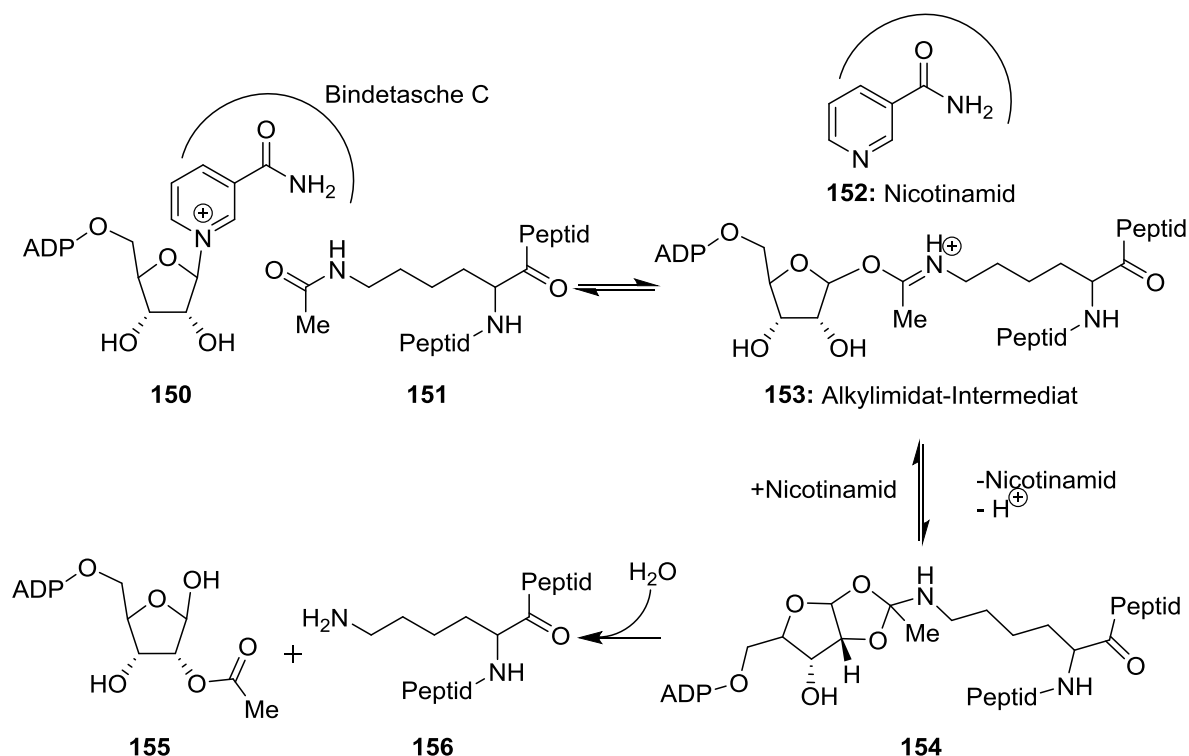


Abbildung 5.3: Mechanismus der katalytischen Deacetylierung von Lysin-Seitenketten durch Sirtuine mit NAD⁺ als Kofaktor.^[243]

Eine erneute Wechselwirkung des gebildeten Nikotinamids (**152**) mit der Bindetasche C führt zur Spaltung des Alkylimidat-Intermediats **153** und zur Freisetzung des acetylierten Substrats **151**. Nikotinamid wirkt daher als schwach endogener Inhibitor,^[263,265,266] dessen IC₅₀-Wert für Sirt1 bei 50 µM,^[204] für Sirt2 bei 100 µM und für Sirt3 bei 30 µM liegt.^[267] Auch das Isonikotinamid bindet in die Bindetasche C von Sir2, inhibiert jedoch nur den Basenaustausch. Die Deacetylaseaktivität wird nicht verringert, kann dadurch sogar erhöht werden.^[206] NADH wirkt ebenfalls als kompetitiver Inhibitor für Sirtuine.^[268] Durch die Abhängigkeit von NAD⁺ und der Freisetzung des Nikotinamids (**152**), ist die Katalyse der Sirtuine unmittelbar mit dem NAD⁺-Spiegel und damit der Energiebilanz der Zelle verknüpft.^[200,269]

Neben diesen nicht selektiven endogenen Modulatoren, für die eine autoregulatorische Funktion vermutet werden kann,^[270] wurde in den letzten Jahren an selektiven und potenten Inhibitoren und Aktivatoren für die einzelnen Isoformen der Sirtuine geforscht. Diese verbessern zum einen das Verständnis der Funktionen dieser Enzymklasse innerhalb des zellulären Kontextes und liefern zum anderen einen vielversprechenden Ansatz für die Darstellung neuer Wirkstoffe.

Aufgrund der Umlagerungen während der Katalyse,^[254,255,271,272] der Komplexität der Reaktion sowie der stark konservierten Sequenz innerhalb des katalytisch aktiven Kerns,

stellte die Synthese selektiver und potenter Modulatoren für diese Enzymklasse eine große Herausforderung für die Chemische Biologie und die Medizinalchemie dar.^[207] Verschiedene Übersichtsartikel fassen die bisher bekannten selektiven Aktivatoren und Inhibitoren der Sirtuine zusammen.^[243,256,273,274] Der erste und einer der potentesten Inhibitoren für Sirt1 ist das Carboxamid EX-527 (**157**) (Abbildung 5.4).

5.2 EX-527

Das 2005 von Napper *et al.* berichtete Tetrahydrocarbazol EX-527 (**157**) (Abbildung 5.4) wurde über ein Hochdurchsatz-Screening von 280000 Substanzen gefunden. In der zugehörigen Veröffentlichung wurden bereits erste Derivate dieser Verbindung hergestellt und deren inhibierende Wirkung auf Sirt1 getestet. Vier dieser Substanzen, die Carboxamide **158**, **159** und **160** (Abbildung 5.4) wurden zusätzlich auf deren Selektivität gegenüber den Isoformen Sirt2 und Sirt3 untersucht (Tabelle 5.2).^[275]

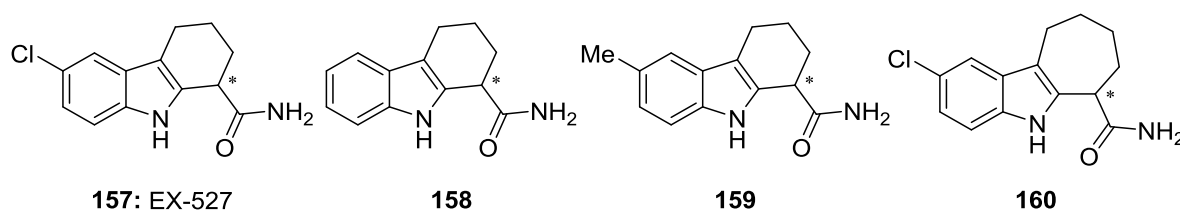


Abbildung 5.4: Die vier in der Publikation von Napper *et al.* dargestellten Tetrahydrocarbazole, deren inhibierende Wirkung neben Sirt1 auch gegen die Isoformen Sirt2 und Sirt3 untersucht wurde.^[275]

Tabelle 5.2: IC₅₀-Werte der in Abbildung 5.4 dargestellten Carboxamide.^[275]

Verbindung	IC ₅₀ Sirt1 [μM]	IC ₅₀ Sirt2 [μM]	IC ₅₀ Sirt3 [μM]
157	0.098	19.6	48.7
158	0.205	11.5	>100
159	1.47	24.8	>100
160	0.124	2.77	>100

Von anderen Gruppen wurden teilweise abweichende Werte für EX-527 (**157**) erhalten, im Übersichtsartikel von Lawson *et al.* beispielsweise wurden IC₅₀-Wertr für Sirt1 von etwa 1 μM gemessen,^[256] Gertz und Steegborn berichteten von ähnliche Werten für Sirt1 und Sirt2, aber einem IC₅₀-Wert von 22.4 μM für Sirt3.^[243] Als möglicher Grund für diese Differenzen scheinen unterschiedliche NAD⁺ Konzentrationen und Assaybedingungen innerhalb der einzelnen Untersuchungen plausibel.^[256] Die Potenz von EX-243, dem biologisch aktiven (*S*)-Enantiomer des Racemats EX-527 (**157**), beruht auf der strukturellen Ähnlichkeit zu Nikotinamid (**152**) und der damit verbundenen möglichen Wechselwirkung

mit der Bindungstasche C.^[207,275] Zusätzlich konnten Wechselwirkungen mit der Ribose des NAD⁺ sowie mit dem Nebenprodukt 2'-O-Acetyl-ADP-Ribose (**155**) beobachtet werden, wobei letztere für die Aktivität verantwortlich zu sein scheint.^[207,243] Durch diese NAD⁺-abhängige Inhibierung erfolgt eine Stabilisierung der geschlossenen Enzymform, wodurch die Freisetzung des deacetylierten Produkts unterbunden wird.^[207]

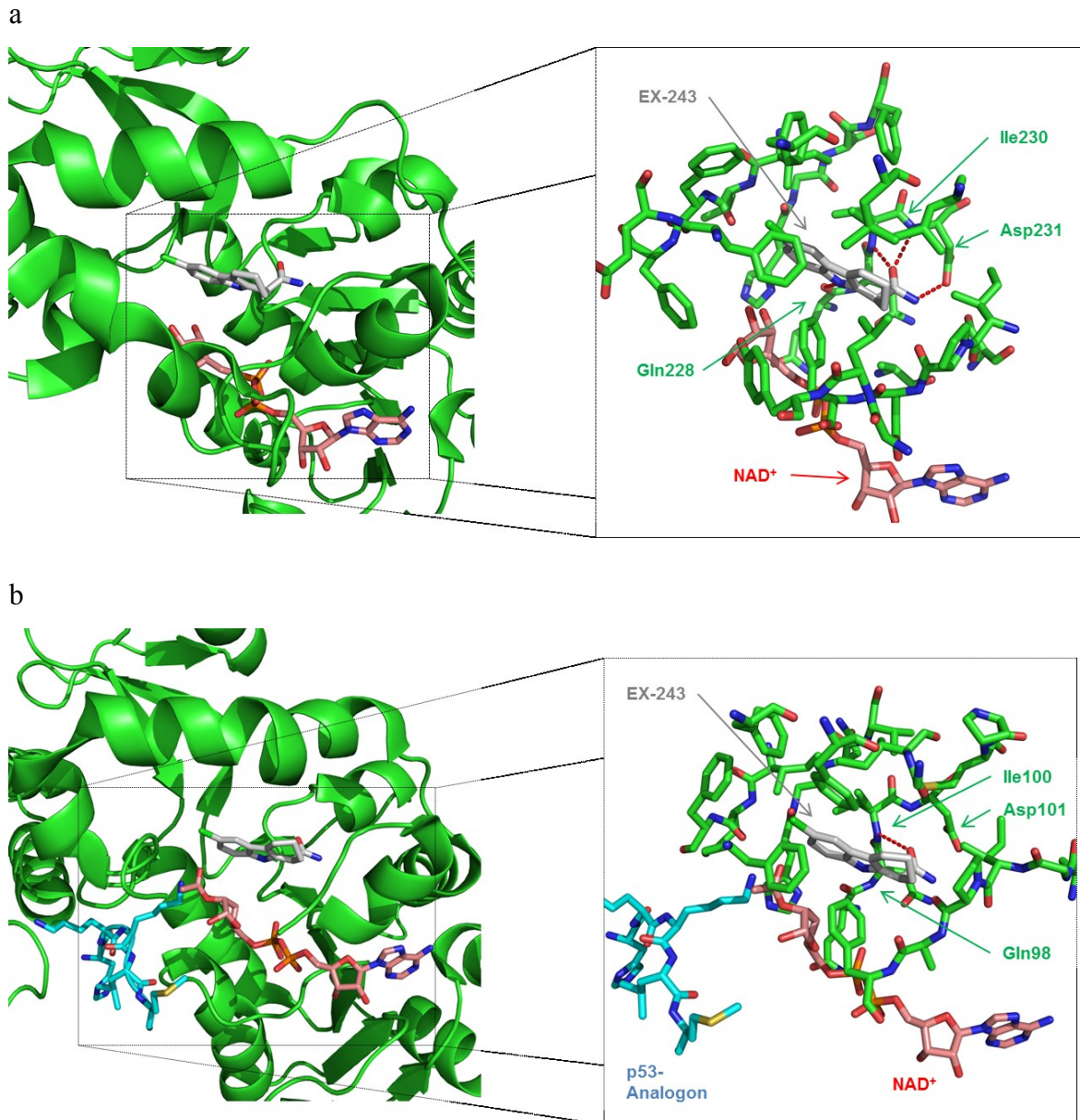


Abbildung 5.5: Darstellung der Sirtuin-Kristallstruktur im Komplex mit EX-243 (grau), Wasserstoffbrückenbindungen wurden jeweils als rot gestrichelte Linien visualisiert. a: aktiver Kern von humanem Sirt3 als Bänder-Struktur sowie ein vergrößerter Ausschnitt des EX-243 und NAD⁺ (magenta) bindenden Bereiches sowie der in unmittelbarer Nähe befindlichen Reste des Enzyms (grün) sind als Stab-Modell dargestellt. b: aktiver Kern von Sir2Tm aus *Termotoga maritima* (grün) als Bänder-Struktur. Der vergrößerte Bereich zeigt EX-243, das deacetylierte Substratanalogen (türkis), die 2'-O-Acetyl-ADP-Ribose (rot) und die in unmittelbarer Nähe befindlichen Reste des Enzyms (grün) als Stab-Modell. a: PDB ID 4BV3 b: PDB ID 4BV2.

In Abbildung 5.5 werden die Kristallstrukturen des Sirtuins Sirt3 im Komplex mit NAD^+ und EX-243 (a) und die des Sirtuins Sir2TM aus *Termotoga maritima* im Komplex mit der 2'-O-Acetyl-ADP-Ribose, einem deacetylierten p53-Analogen und EX-243 (b) gezeigt. Der für die Wechselwirkung zwischen Inhibitor und Enzym relevante Bereich wurde rechts daneben vergrößert dargestellt. EX-243 interagiert in beiden Fällen mit der Bindungstasche C des Enzyms, die räumlich begrenzt ist, jedoch Möglichkeiten der Modifikation des aromatischen Bereiches sowie des Carboxamids, bzw. entsprechender Ester bietet. In der oberen Abbildung konnten Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Carboxamid und Asp231 und Ile230 sowie der NH-Gruppe von EX-243 und Gln228 detektiert werden. Im Komplex mit der Isoform Sir2TM (Abbildung 5.5 b) wurde aufgrund der räumlichen Nähe zwischen dem Carboxamid und Ile100 ebenfalls auf eine solche Wechselwirkung geschlossen. Eine Wasserstoffbrücke zwischen der NH-Gruppe von EX-243 und dem darunter liegenden Gln98 sowie dem Carboxamid und Asp101 wurde nicht berechnet, könnte aber aufgrund der zu Sirt3 homologen Topologie möglich sein. Der Unterschied der Nummerierung der interagierenden Aminosäuren liegt daran, dass der N-Terminus von Sirt3 während des Reifungsprozesses des Enzyms abgespalten wurde.^[276,277] Die in Abbildung 5.5 erkennbare Halbsesselkonformation des Zykllohexen-Restes mit axial positioniertem Carboxamid ermöglicht die gleichzeitige Ausrichtung des Carboxamids in der Bindungstasche C und des Indoyl-Restes in einer zur Bindungstasche C fast senkrecht ausgerichteten Kavität. Der aromatische Bereich des Inhibitors wechselwirkt zusätzlich mit dem Nikotinamidrest des NAD^+ .^[207] Die Bindungsmodi von EX-243 in den Orthologen Sirt3 (Abbildung 5.5 a) und Sir2Tm (Abbildung 5.5 b) unterscheiden sich lediglich in der Topologie der Kofaktor-bindenden Schleife.^[259-261,278] Differenzen in der Selektivität wurden auf Unterschiede in der Kinetik der Bildung und Freisetzung der Produkte zurückgeführt.^[207,243]

EX-527 (157) wurde bereits zu Untersuchungen der Funktion des Sirt1-Enzyms in *in vivo* und in *in vitro* Studien verwendet, für diese waren keine genetischen Manipulationen notwendig.^[207,279,280]

5.3 Zielsetzung

Viele Erkenntnisse über Funktionen und Wechselwirkungen der Sirtuine und deren Orthologe wurden über Knockout oder Genmanipulation erhalten. Diese führen teilweise zu Artefakten, wie beispielsweise der falschen Adressierung der untersuchten Isoformen durch nicht vollständig ausgebildete Translokationssequenzen, oder zu systematisch ver-

änderten, konzentrationsabhängigen Interaktionen, Eigenschaften oder Aktivitäten.^[204,206,208,242] Eine zusätzliche Problematik bei der Darstellung von Sirt1 Knockout-Mäusen war die etwa 75%ige Sterberate während der Embryonalentwicklung.^[204] Bei der Überexpression von Sirt2 wurden Phänomene beobachtet, die auf Neurodegeneration schließen ließen.^[208]

Durch die Darstellung von auf EX-527 (**157**) basierenden, niedermolekularen Sonden, die Sirt1, Sirt2 oder Sirt3 selektiv adressieren und deren Aktivität steigern oder senken könnten, sollte eine Alternative, bzw. eine Ergänzung zur Erforschung der Funktionen dieser Isoformen im zellulären Kontext sowie in Bezug zum gesamten Organismus oder innerhalb bestimmter Gewebetypen durch Knockout oder Genmanipulation ermöglicht werden. Des Weiteren könnten durch die Erweiterung der Struktur-Aktivitäts-Beziehung dieses Carboxamids neue Einblicke in die Substratspezifität der einzelnen Sirtuine innerhalb des aktiven Zentrums generiert werden.

In diesem Teil der Arbeit wurde die Modifizierung des aromatischen Bereiches von EX-527 zur Erhöhung der Selektivität zwischen den Isoformen Sirt1, Sirt2 und Sirt3 angestrebt. Für die Darstellung einer möglichst großen Bandbreite an unterschiedlichen Derivaten sollte, analog des Ansatzes von Napper *et al.* die einstufige Bischler-Möhlau-Indolsynthese verwendet werden (Abbildung 5.6).^[275]

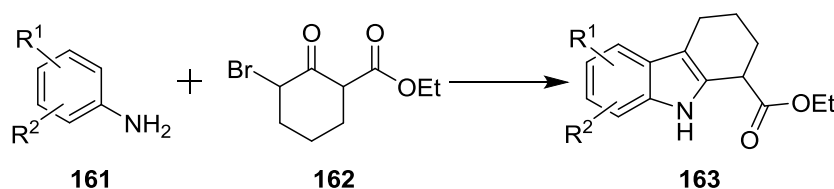


Abbildung 5.6: Schematische Darstellung der Synthese verschiedener Tetrahydrocarbazol-Derivate **163** ausgehend von unterschiedlichen Anilinen **161** über die Bischler-Möhlau-Indolsynthese.

Durch die Verwendung verschiedener Anilinderivate **161** und deren Reaktion mit dem Bromid **162** unter milden Bedingungen, sollten Tetrahydrocarbazole **163** mit Substituenten in 5-, 6-, 7- und/oder 8-Position erhalten werden. Letztere sollten dabei möglichst unterschiedliche chemische Eigenschaften (Wasserstoffbrücken-Donatoren/-Akzeptoren, aliphatisch/aromatisch, elektronenziehend/elektronenschiebend) aufweisen, um die entsprechenden Auswirkungen dieser Modifikationen auf die Modulation und Selektivität der so erhaltenen Tetrahydrocarbazole gegenüber den Sirtuinen Sirt1, Sirt2 und Sirt3 untersuchen zu können.

5.4 Darstellung verschiedener Tetrahydrocarbazole

Die Darstellung des Inhibitors EX-527 (**157**) erfolgte analog der Vorschrift von Napper *et al.* (Abbildung 5.7).^[275]

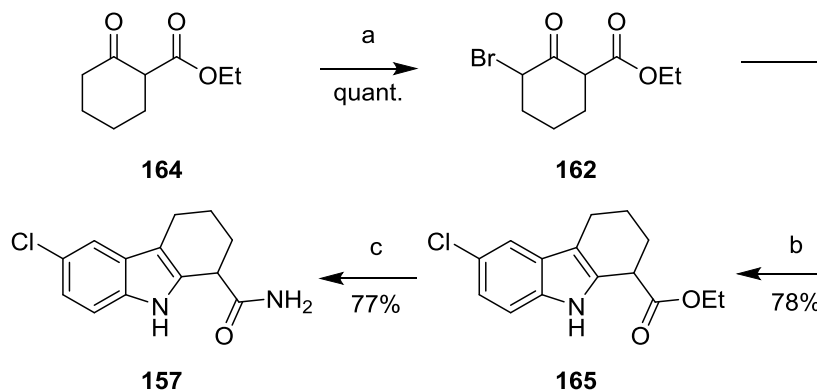


Abbildung 5.7: Synthese des Carboxamids **157** analog der Vorschrift von Napper *et al.*^[275] Bedingungen: a) Br₂, Et₂O, 0 °C nach RT, 8 h; b) 4-Chloranilin, 165 °C, 4 h; c) KCN, NH₃ (7 M in MeOH), 60 °C, 2.5 d.

Nach Bromierung des β -Ketoesters **164** in α -Stellung zum Keton wurde das entsprechende Bromid **162** in quantitativer Ausbeute erhalten und mit 4-Chloroanilin bei 165 °C zum 6-Chloro-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-ethylester (6-Cl-THC-OEt) (**165**) umgesetzt. Durch zweitägige Reaktion dieses Esters in methanolischer NH₃-Lösung (7 M), in Gegenwart einer, in der vorliegenden Arbeit für diese Reaktion optimierten, katalytischen Menge an KCN^[281] und einer Temperatur von 60 °C konnte EX-527 (**157**) in einer Ausbeute von 77% dargestellt werden.

Die Bildung des Tetrahydrocarbazols aus 2 Äquiv. des Anilinderivats und einem Äquiv. des α -Bromoketons **162** erfolgte dabei analog der Bischler-Möhlau-Indolsynthese (Abbildung 5.8).^[282,283] Der Mechanismus dieser ungewöhnlichen Umsetzung lässt sich nach heutiger Literatur wie folgt beschreiben.

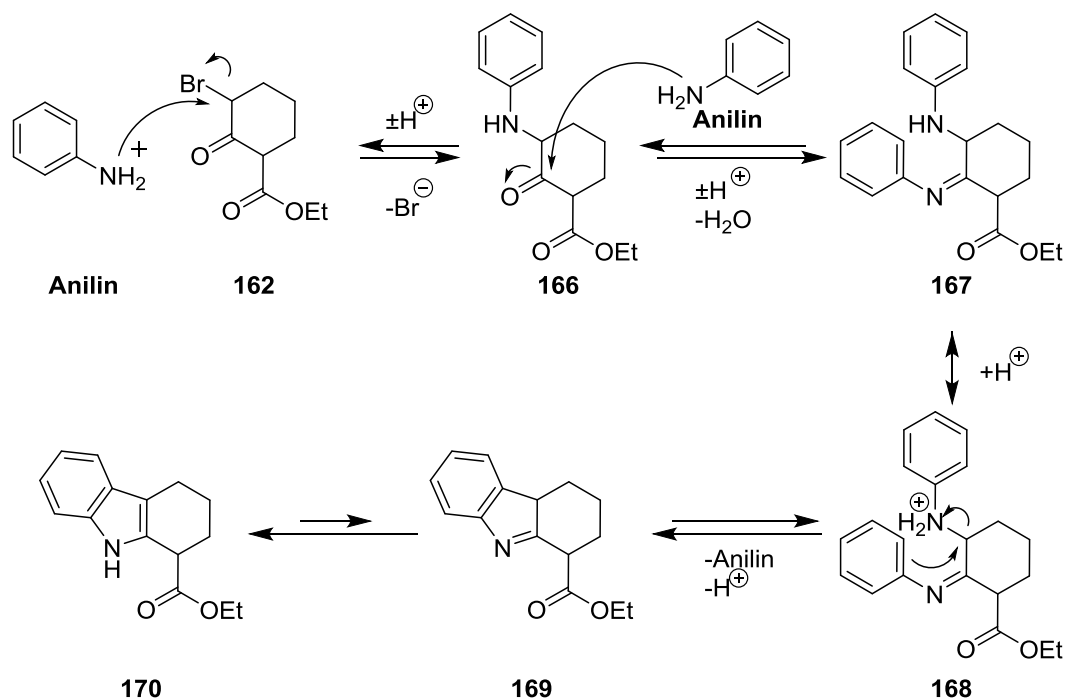


Abbildung 5.8: Der derzeit geltende Mechanismus der Bischler-Möhlau-Indolsynthese am Beispiel des Tetrahydrocarbazols **170**.

Im initialen Schritt tritt zunächst eine nukleophile Substitution des α -ständigen Bromids durch die NH_2 -Gruppe des ersten Anilins ein. Durch Additions-Eliminierungs-Reaktion des zweiten Anilins und protonenkatalysierter Wasserabspaltung erfolgt die Bildung von Imin **167**. Durch den hier postulierten intramolekularen nukleophilen Angriff der *ortho*-Position **168** und anschließender Rearomatisierung wird Imin **169** gebildet. Über eine Isomerisierung der Doppelbindung entsteht das Tetrahydrocarbazol **170**. Anstelle des hier postulierten intramolekularen nukleophilen Angriffs der *ortho*-Position, der zum direkten Bruch einer C-N-Bindung führen würde, könnte die Reaktion von Imin **167** zu Tetrahydrocarbazol **169** auch, wie in Abbildung 5.9 dargestellt über das Iminiumion **171** verlaufen. Letzteres könnte über eine intramolekulare Substitution zu Hexahydrocarbazol **172** und dieses durch Eliminierung von Anilin und Erweiterung des aromatischen Systems zu Tetrahydrocarbazol **170** reagieren.

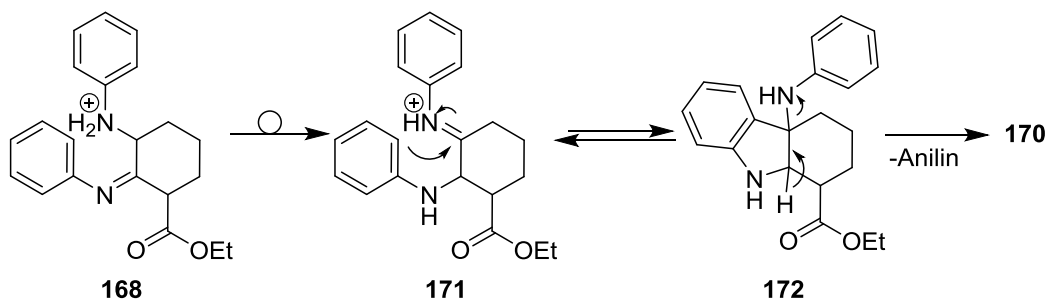


Abbildung 5.9: Alternativer Mechanismus für die Bildung des Tetrahydrocarbazols **170** aus Imin **168**.

Aufgrund der recht harschen Bedingungen zur Darstellung der Tetrahydrocarbazole und der damit verbundenen geringen Bandbreite an einsetzbaren Substraten,^[282-284] wurden alternative, literaturbekannte Varianten zur Bildung dieser Heteroaromaten anhand der Synthese des Esters **170** untersucht (Abbildung 5.10).

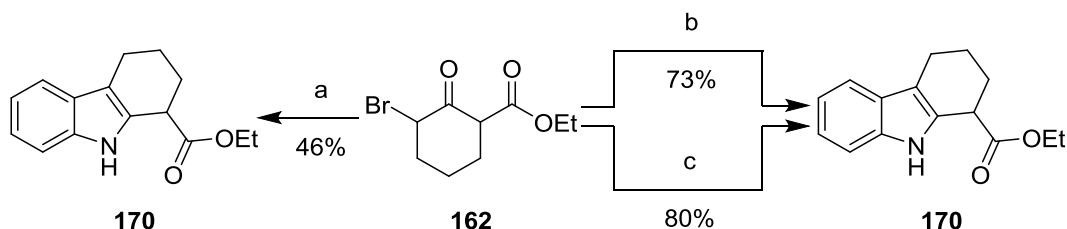


Abbildung 5.10: Alternative Bedingungen zur Darstellung der Tetrahydrocarbazole am Beispiel des THC-OEt (**170**). Für die Synthese wurde jeweils ein Äquiv. des Bromids **162** sowie 2 Äquiv. Anilin verwendet. Bedingungen: a) 165 °C, 6 h; b) 140 °C, 5-7 mbar, 3 h; c) EtOH, 85 °C, 4 h.

Unter der Bedingung von Napper *et al.* konnte THC-OEt (**170**) in einer Ausbeute von 46% erhalten werden.^[275] Durch reduzieren des Druckes und der Temperatur,^[285] konnte die Reaktionszeit verringert und die Ausbeute auf 73% erhöht werden. Wurde die Reaktion für vier Stunden in siedendem Ethanol durchgeführt,^[286] konnte THC-OEt (**170**) in einer Ausbeute von 80% erhalten werden.

In der Literatur wurden bisher vorrangig Anilinderivate mit Me-, Cl- und MeO-Substituenten für die Indolsynthese nach Bischler und Möhlau erwähnt.^[275,282,283] Die Eignung anderer Anilinderivate zur Darstellung der Tetrahydrocarbazole mit Bromid **162** in siedendem Ethanol wurde daher untersucht und die erhaltenen Ergebnisse in Abbildung 5.11 und in Tabelle 5.3 zusammengefasst.

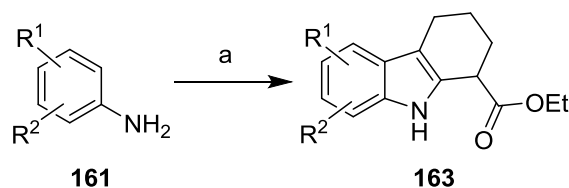
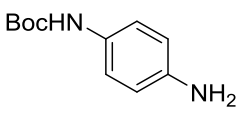
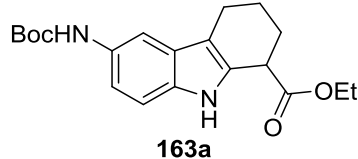
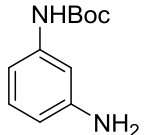
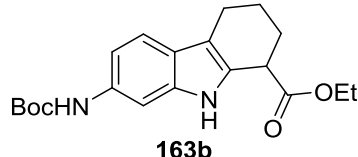
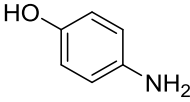
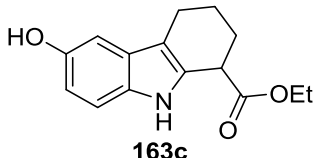
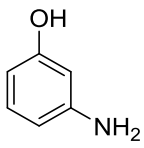
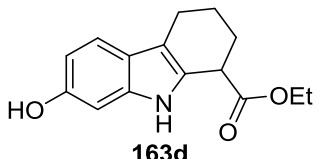
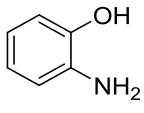
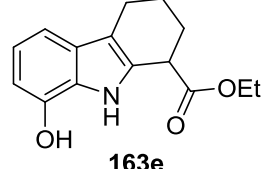
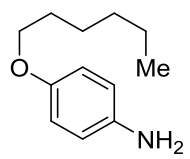
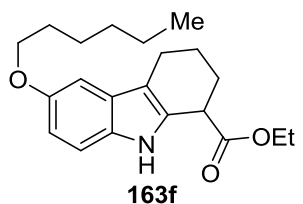
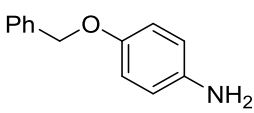
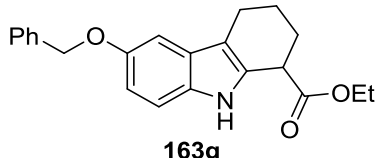
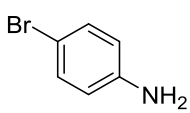
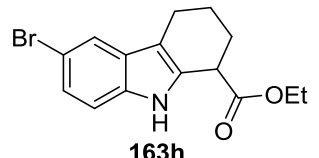


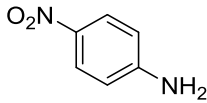
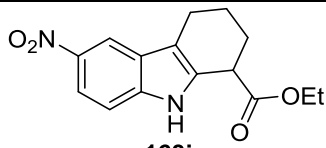
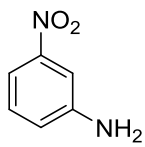
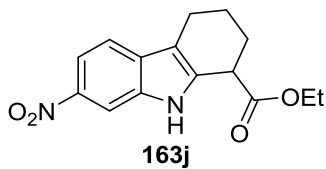
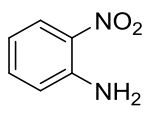
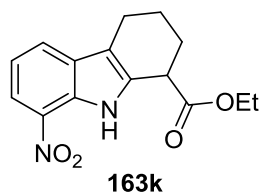
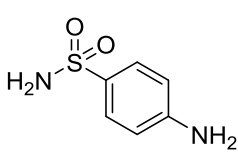
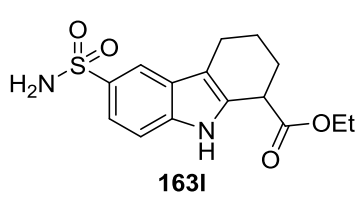
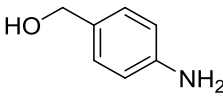
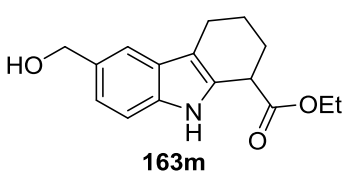
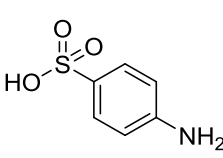
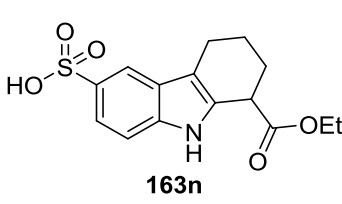
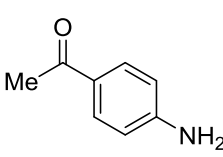
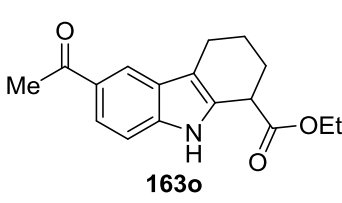
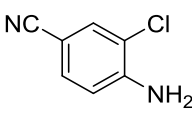
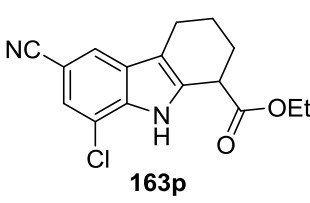
Abbildung 5.11: Darstellung verschiedener THC-OEt-Derivate **163** ausgehend von den entsprechenden Anilinderivaten **161**. Eine Übersicht über die verwendeten Anilinderivate sowie die Reaktionsdauer und die erhaltenen Ergebnisse wurde in Tabelle 5.3 zusammengestellt. Bedingung: a) EtOH, 85 °C.

Tabelle 5.3: Zur Darstellung der Tetrahydrocarbazole untersuchte Anilinderivate.

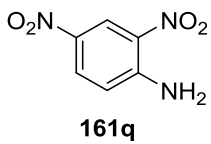
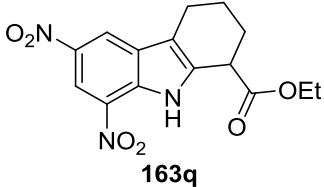
Eintrag	Anilin	Reaktionszeit (h)	Tetrahydrocarbazol	Beobachtung
1	 161a	4	 163a	50% Ausbeute
2	 161b	4	 163b	61% Ausbeute
3	 161c	3.5	 163c	58% Ausbeute
4	 161d	4	 163d	67% Ausbeute
5	 161e	29	 163e	In Spuren vorhanden
6	 161f	21	 163f	58% Ausbeute
7	 161g	16	 163g	69% Ausbeute
8	 161h	6	 163h	In Spuren vorhanden

5.4 Darstellung verschiedener Tetrahydrocarbazole

Fortsetzung Tabelle 5.3

Eintrag	Anilin	Reaktionszeit (h)	Tetrahydrocarbazol	Beobachtung
9	 161i	28	 163i	In Spuren vorhanden
10	 161j	6	 163j	In Spuren vorhanden
11	 161k	94	 163k	Nicht detek- tierbar
12	 161l	6	 163l	Nicht detek- tierbar
13	 161m	3.5	 163m	Nicht detek- tierbar
14	 161n	94	 163n	Keine Um- setzung
15	 161o	28	 163o	Keine Um- setzung
16	 161p	94	 163p	Keine Um- setzung

Fortsetzung Tabelle 5.3

Eintrag	Anilin	Reaktionszeit (h)	Tetrahydrocarbazol	Beobachtung
17	 <p>161q</p>	96	 <p>163q</p>	Keine Umsetzung

Durch diese Methode konnten die NHBoc-geschützten THC-Derivate **163a** und **163b** (Tabelle 5.3, Einträge 1 und 2) in Ausbeuten von 50, bzw. 61% hergestellt werden. Die Darstellung der Hydroxylderivate **163c** und **163d** war auch ohne vorheriges Schützen der OH-Funktionen möglich und lieferte die entsprechenden Tetrahydrocarbazole in mittlerer bis guter Ausbeute (Einträge 3 und 4). Bei der Umsetzung des Bromids **162** mit 2-Aminophenol (**161e**) konnten nur Spuren des entsprechenden 8-OH-THCs (**163e**) detektiert werden (Eintrag 5). Die Synthese der beiden Ether **163f** und **163g** (Einträge 6 und 7) erfolgte in guten Ausbeuten. Aus der Umsetzung mit 4-Bromoanilin (**161h**) konnten durch diese Methode nach sechs stündiger Reaktionszeit Spuren des entsprechenden Tetrahydrocarbazols **163h** erhalten werden (Eintrag 8), bei den beiden anderen untersuchten Methoden^[275,285] wurde die Bildung des 6-Br-THC-OEt (**163h**) nicht beobachtet. Bei der Umsetzung der *para*- und *meta*-Nitroanilinderivate (**161i**), bzw. (**161j**) konnten Spuren der entsprechenden THCs detektiert werden, mit *ortho*-Nitroanilin (**161k**) konnte kein THC erhalten werden. Die Umsetzungen mit den Anilinderivaten **161l**, bzw. **161m** lieferten diverse Produkte, die Bildung des 6-H₂NSO₂-THC-OEt (**163l**) oder des 6-HO-CH₂-THC-OEt (**163m**) konnte nicht detektiert werden (Einträge 12 und 13). Eine Umsetzung mit dem Sulfonsäure-Derivat **161n** (Eintrag 14), dem Keton **161o** (Eintrag 15) sowie den beiden trisubstituierten Aromaten **161p** und **161q** (Einträge 16 und 17) war nicht zu beobachten.

Mit dieser milderen Methode wurde die Umsetzung der nicht geschützten Aminophenole **161c** und **161d** erfolgreich durchgeführt. Auch die entsprechenden Ether **161g** und **161f** sowie die Carbamate **161a** und **161b** wurden in die Tetrahydrocarbazole **163a** und **163b** überführt. Die Darstellung des 8-Hydroxy-Tetrahydrocarbazols **163e** sowie des 6-Brom-Derivates **163h** gelang lediglich in kaum nachweisbaren Mengen. Bei der Verwendung der Nitroaniline **161i-k**, des Benzylalkohols **161m**, oder stärker elektronenziehender Gruppen sowie den trisubstituierten Anilinen **161q** und **161q** konnte keine Umsetzung, bzw. keine Reaktion zum entsprechenden Tetrahydrocarbazol beobachtet werden. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass durch den –I-Effekt dieser

Gruppen die Nukleophilie der *ortho*-Position des angreifenden Aromaten in Imin **168** (Abbildung 5.8), bzw. im Iminiumion **171** (Abbildung 5.9) soweit reduziert wird, dass der intramolekulare nukleophile Angriff zur Ausbildung des annelierten Fünfrings nicht erfolgen kann.

Zur Erweiterung der Substanzbibliothek wurden im Folgenden verschiedene Methoden zur Modifikation der oben erhaltenen Tetrahydrocarbazole untersucht. Die Darstellung der Ether auf der Stufe des THC's wurde, ausgehend vom 6-HO-THC-OEt (**163c**), am Beispiel des bereits hergestellten *n*Hexylethers **163f** getestet.

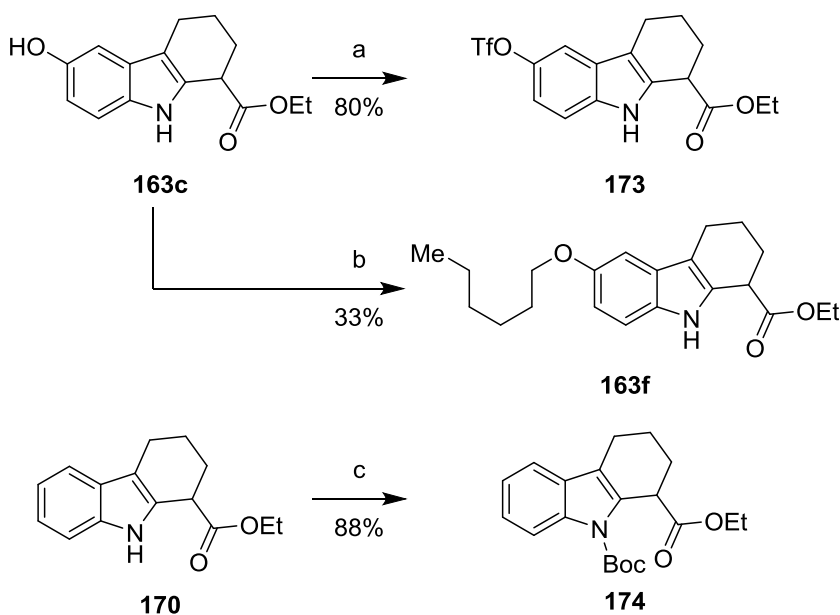


Abbildung 5.12: Nachträgliche Modifikation der gebildeten THC-Derivate. Bedingungen: a) TrfO , EtNiPr_2 , CH_2Cl_2 , $-10\text{ }^\circ\text{C}$ nach $0\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h; b) 1-Bromhexan, KOH , DMSO , RT, 3.5 h; c) Boc_2O , DMAP , NEt_3 , MeCN , RT, 21 h.

Unter der in Abbildung 5.12 gezeigten Reaktionsbedingung^[287] konnte der Ether **163f** in einer Ausbeute von 33% erhalten werden. Mit K_2CO_3 in Butanon bei $80\text{ }^\circ\text{C}$ ^[288] sowie mit Cs_2CO_3 und $n\text{Bu}_4\text{NI}$ in DMF ^[289] gelang die Darstellung von THC **163f** nicht. Daher wurde 6-BnO-THC-OEt (**163g**) weiterhin über die Reaktion von *para*-Benzyloxyanilin (**161g**) mit Bromid **162** in siedendem EtOH dargestellt und in einer Ausbeute von 69% erhalten (Tabelle 5.3, Eintrag 7).^[286]

Die Derivatisierung der THC-OEt's über Kreuzkupplungen wurde ebenfalls untersucht. Hierfür wurde 6-HO-THC-OEt (**163c**) zunächst mit sehr guter Ausbeute in Triflat **173** überführt.^[290] Die Umsetzung mit Propagylamin in siedendem THF ^[291] und von TMS-Ethylen mit NEt_3 in Gegenwart katalytischer Mengen $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ in DMF bei $90\text{ }^\circ\text{C}$ ^[292] lieferten jedoch nicht die gewünschten Produkte.

Die in Abbildung 5.5 gezeigte Kristallstruktur von Sirt3 im Komplex mit EX-243 und der Wasserstoffbrücke zwischen der aromatischen NH-Gruppe und Gln228 legte nahe, dass die NH-Funktion für die biologische Aktivität wichtig sein könnte. Zur Überprüfung der Hypothese wurde THC-OEt (**170**) in sehr guter Ausbeute in Carbamat **174** überführt.^[293]

Bei dem Versuch, den Nitro-THC-OEt **163i/j/k** über Nitrierung mit HNO₃ und H₂SO₄ herzustellen,^[294] wurde anstelle dessen das oxidierte Carbazol **175** mit einer Ausbeute von 50% isoliert (Abbildung 5.13).

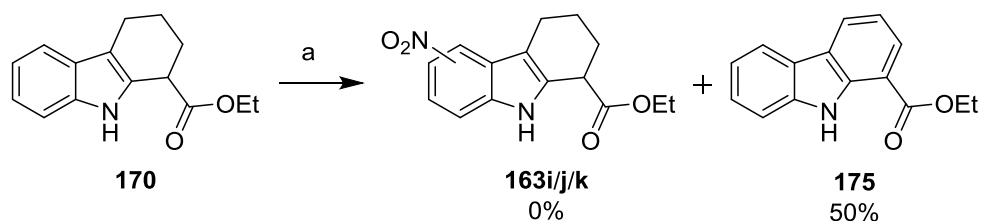


Abbildung 5.13: Nitrosylierung, bzw. Oxidation von THC-OEt (**170**). Bedingung: a) HNO₃, H₂SO₄, 0 °C, 15 min.

Zur Modifikation der Position 1 wurden die stabileren, freien Carbonsäuren **176** und **177** aus den Ethylestern **165**, bzw. **170** in sehr guten Ausbeuten erzeugt (Abbildung 5.14).

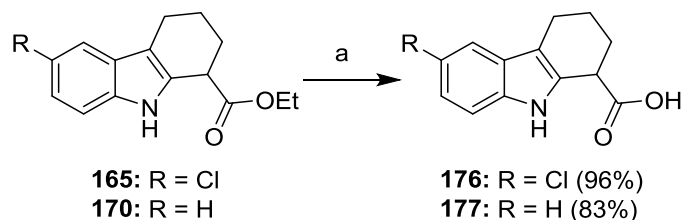


Abbildung 5.14: Darstellung der freien Carbonsäuren **176** und **177** aus den entsprechenden Ethylestern über Hydrolyse. Bedingung: a) NaOH, H₂O, EtOH, RT, 4 h.

Im letzten Schritt der Synthese der EX-527-Analoga, wurde der Ethylester in ein Carboxamid überführt. Diese Umsetzung konnte für 6-Cl-THC-OEt (**165**) (Abbildung 5.7) sowie das unsubstituierte THC-OEt (**170**) in Gegenwart katalytischer Mengen KCN (10 mol%) in methanolischer NH₃-Lösung durchgeführt werden (Abbildung 5.15).^[281] Bei den OH-Analoga **163c** und **163d** führte eine entsprechende Behandlung mit der siedenden methanolischen NH₃-Lösung (7 M) zur Zersetzung, die BocHN-Derivate **163a** und **163b** lieferten Spuren der entsprechenden Carboxamide.

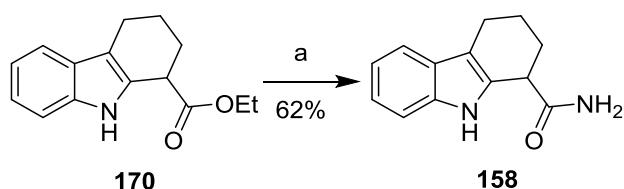


Abbildung 5.15: Direkte Darstellung des Carboxamids **158** ausgehend vom Ethylester **170**. Bedingung: a) KCN, NH₃ (7 M in MeOH), 60 °C, 2.5 d.

Alternativ zur direkten Darstellung, wurde die Synthese der Carboxamide **179a-d** über Verseifung des Ethylesters, Aktivierung der freien Carbonsäure und Umsetzung mit NH₃ untersucht (Abbildung 5.16). Die freien Carbonsäuren **178a-d** erwiesen sich jedoch als wenig stabil.

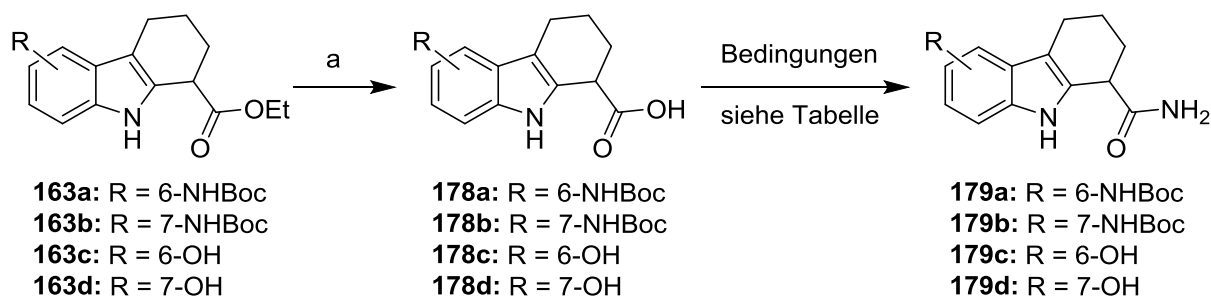


Abbildung 5.16: Indirekte Darstellung der Carboxamide **179a-d** über die nicht isolierten freien Carbonsäuren **178a-d**. Bedingung: a) NaOH, H₂O, EtOH, RT, 4 h.

Daher wurden die durch Hydrolyse der Ethylester erhaltenen freien Carbonsäuren nicht isoliert. Die Darstellung der Säurechloride der Carbonsäuren **178a-d** mit Oxalylchlorid konnte über DC nachgewiesen werden. Nach dem Lösen dieser Säurechloride in wasserfreiem CH₂Cl₂ und dem Einleiten von gasförmigem NH₃ konnten geringe Mengen der entsprechenden Carboxamide detektiert werden (Tabelle 5.4, Einträge 1-4). Die Umsetzung der freien Carbonsäuren **178a-c** unter den Bedingungen von Pozdnev *et al.*^[295] lieferte das Carboxamid **179a** (Eintrag 5) und 7-BocHN-THC-NH₂ (**179b**) (Eintrag 6) in Ausbeuten von 27%, bzw. 67% über 2 Stufen sowie Spuren von 6-HO-THC-NH₂ (**179c**) (Eintrag 7).

Tabelle 5.4: Indirekte Darstellung der Carboxamide der HO- und BocHN-substituierten Tetrahydrocarbazole. Bedingung: A) i) Oxalylchlorid, DMF, CH₂Cl₂, –78 °C, 4 h, ii) NH₃ (g), CH₂Cl₂, 0 °C nach RT, 1 h; B) Pyridin, Boc₂O, NH₄HCO₃, MeCN, RT, 5-27 h.

Eintrag	Bedingung	Substrat	Substitution	Beobachtung
1	A	178a	6-BocNH	Spuren an Carboxamid 179a gebildet
2	A	178b	7-BocNH	Spuren an Carboxamid 179b gebildet
3	A	178c	6-OH	Spuren an Carboxamid 179c gebildet
4	A	178d	7-OH	Spuren an Carboxamid 179d gebildet
5	B	178a	6-BocNH	27% Carboxamid 179a über 2 Stufen ^c
6	B	178b	7-BocNH	67% Carboxamid 179b über 2 Stufen ^c
7	B	178c	6-OH	Spuren an Carboxamid 179c gebildet

5.4.1 Stabilität der Tetrahydrocarbazole

Eine Wiederholung der HPLC-Analytik des 6-Cl-THC-NH₂ (**157**) (Abbildung 5.17 a) wies nach 3.5 Monaten bei –25 °C (Abbildung 5.17 b) weitere Verbindungen auf.

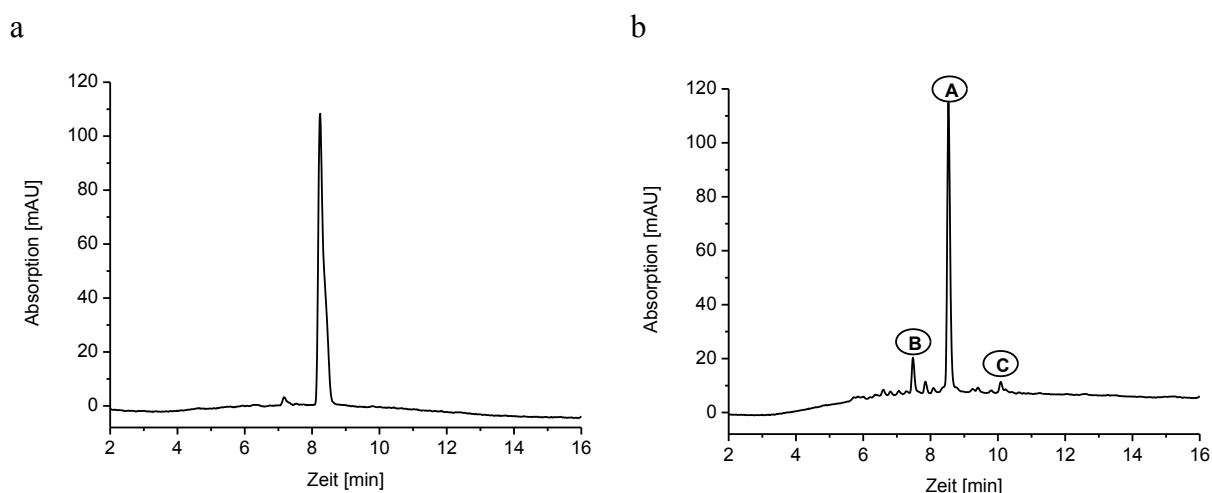


Abbildung 5.17: HPLC-Chromatogramm von EX-527 (**157**) (Verbindung A, $t_R = 8.5$ min): a) Direkt nach Isolierung und Kristallisation; b) Nach 3.5 monatiger Lagerung bei –25 °C.

Neben EX-527 (**157**) (Verbindung A, $t_R = 8.5$ min), konnten zwei weitere Signale mit Retentionszeiten von 7.5 min (Verbindung B) und 10.1 min (Verbindung C) beobachtet werden. Anhand von massenspektroskopischen Analysen der Substanz B und der Isolierung der kaum ionisierenden Substanz C, konnten diese beiden, primär entstandenen Verbindungen zugeordnet werden. Anhand von LC-MS- und HRMS-Daten liegt die Vermutung

nahe, dass Verbindung B dem 6-Cl-Dihydrocarbazol-1-carboxamid entsprach, das ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung C zeigte lediglich aromatische Signale. Dies deutete auf die vollständige Oxidation zum 6-Cl-Carbazol-1-carboxamid (**180**) hin (Abbildung 5.18).

Zur Validierung der Struktur der Substanz C, sollte das postulierte Carbazol über Oxidation aus EX-527 erhalten werden. Diese Carbazole würden ebenfalls auf deren biologische Aktivität hin untersucht werden.

5.5 Synthese einiger Carbazole

Eine Oxidation der Carboxamide war mit der zuvor beschriebenen Bedingung (HNO_3 und H_2SO_4) nicht möglich. Die Umsetzung mit DDQ in siedendem CH_2Cl_2 ^[296] lieferte die Carbazole der Ester **180** und **175** in guten bis sehr guten und die der Carboxamide **181** und **182** in mäßigen, bzw. geringen Ausbeuten (Abbildung 5.18). Diese Ergebnisse zeigten, dass die Oxidation von Tetrahydrocarbazolen ohne vorherige Modifikation der NH-Gruppe durchgeführt werden konnte.^[297]

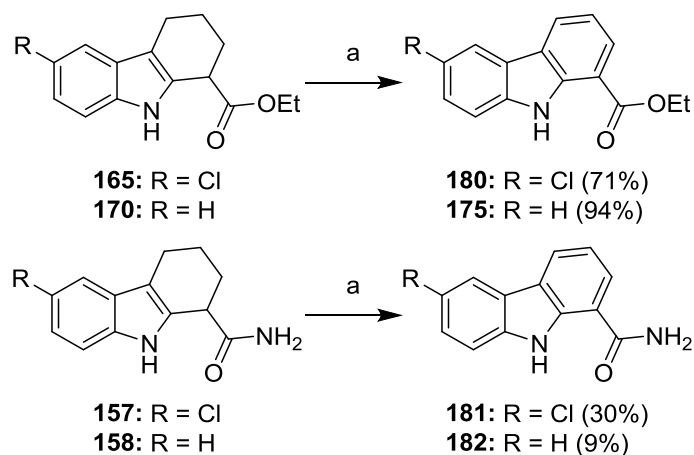


Abbildung 5.18: Oxidation der Tetrahydrocarbazole zu den entsprechenden Carbazolen. Bedingung: a) DDQ, CH_2Cl_2 , 45 °C, 4-16 h.

Die Retentionszeiten sowie die erhaltenen NMR-Daten des Carboxamids **180** entsprachen denen der oben besprochenen Verbindung C (Abbildung 5.17) und bestätigte somit die langsame Autooxidation des Tetrahydrocarbazols EX-527 (**157**).

5.6 Zusammenstellung der biologischen Daten

Die Untersuchung der pharmakologischen Charakterisierung der oben dargestellten niedermolekularen Verbindungen an den Sirtuinen 1, 2 und 3 wurde in Kooperation mit der

Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jung (Freiburg i. Br.) anhand des ZMAL-Tests (ZMAL: Z-Lys(Ac)-7-Amino-4-methylcoumarin; Kapitel 8.1.5) durchgeführt.^[298] Eine Übersicht der bereits durchgeführten Untersuchungen wurde in Tabelle 5.5 und die Strukturen der getesteten Verbindungen in Abbildung 5.19 zusammengestellt. Die biologische Aktivität der verschiedenen Tetrahydrocarbazole und Carbazole gegenüber den untersuchten Isoformen wurde bei einer Konzentration von 50 μM gemessen.

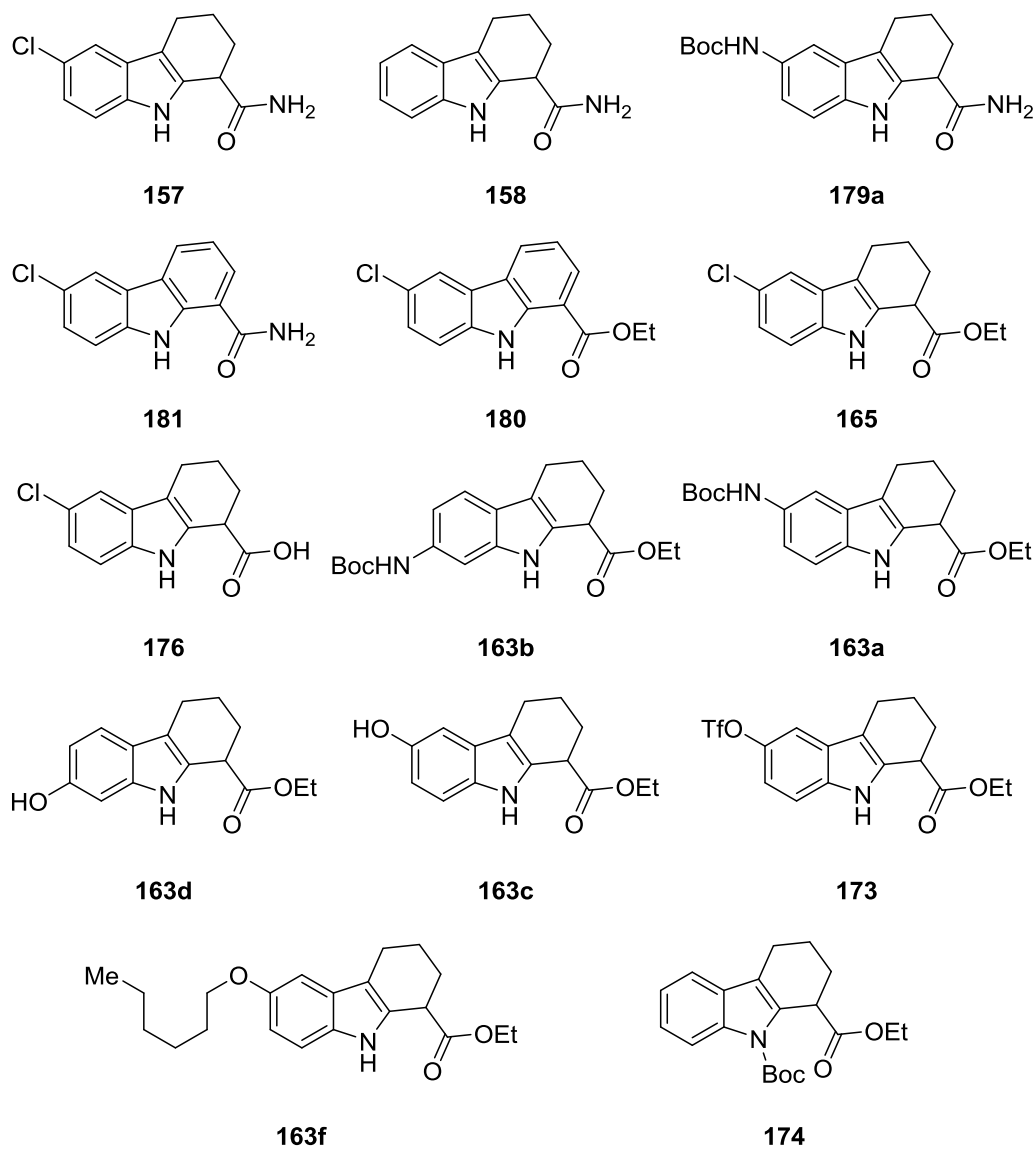


Abbildung 5.19: Schematische Darstellung der Tetrahydrocarbazole und Carbazole, die bisher pharmakologisch auf deren Aktivierung/Inhibierung an Sirt1, Sirt2 und Sirt3 untersucht wurden.

Tabelle 5.5: Ergebnisse der ZMAL-Tests zur Untersuchung der biologischen Aktivität der hergestellten Tetrahydrocarbazole und Carbazole gegen die Isoformen Sirt1, Sirt2 und Sirt3. Die Modulation wurde bei einer Konzentration von 50 μM untersucht. Positive Werte entsprachen einer Inhibierung, negative Werte einer Aktivierung. Bei Werten um 0 war kein Effekt zu beobachten.

Eintrag	Verbindung	Inhibition bei 50 μM (%)		
		Sirt1	Sirt2	Sirt3
1	157	99	87	19
2	158	99	53	0
3	179a	-61	1	-9
4	181	-109.4	-13.7	3.2
5	180	-7.5	-14.5	-9.3
6	165	-23	74	-2
7	176	-12	20	-6
8	163b	-48	-11.9	-25
9	163a	-9	4.3	1.6
10	163d	5.8	5.9	1.4
11	163c	12	17	-2
12	173	-15	-22	-10
13	163f	13.1	21.1	10
14	174	7	8	-15

EX-527 (**157**) (Eintrag 1, $\text{IC}_{50} = 1.4 \pm 0.1 \mu\text{M}$) zeigte ebenso wie Carboxamid **158** (Eintrag 2) bei einer Konzentration von 50 μM eine fast vollständige Inhibierung der Isoform Sirt1, in Analogie zur Literatur wies das unsubstituierte THC-NH₂ (**158**) eine etwas höhere Selektivität gegenüber Sirt2 und Sirt3 auf, als 6-Cl-THC-NH₂ (**157**). Napper *et al.* beschrieben ebenfalls, dass THC-NH₂ (**158**) keine Modulation des Sirtuins 3 ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$) aufwies, die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Selektivität zwischen Sirt1 ($\text{IC}_{50} = 1.47 \mu\text{M}$) und Sirt2 ($\text{IC}_{50} = 24.8 \mu\text{M}$) fiel jedoch geringer aus.^[275] Eine ebenfalls selektive Interaktion mit Sirt1 konnte bei 6-BocHN-THC-NH₂ (**179a**) (Eintrag 3) beobachtet werden. Im Gegensatz zum Cl-substituierten Derivat wies Carbamat **179a** eine aktivierende Wirkung auf.

Die völlig aromatischen Derivate **181** und **180** (Einträge 4 und 5) wurden ebenfalls auf deren biologische Aktivität hin untersucht. Obwohl die pharmakophoren Gruppen identisch zu EX-527 (**157**) und dem Ethylester **165** (Eintrag 6) waren, führte die Einebnung des Ringgerüsts zu einer Änderung in der Funktionalität. So entstand durch Aromatisie-

rung des bekannten Inhibitors EX-527 das Carbazol **181** (Eintrag 4), das selektiv die Sirtuin 1 Aktivität erhöhte.

Der entsprechende aromatische Ethylester **180** (Eintrag 5) hatte innerhalb dieses Tests keinen Einfluss auf die untersuchten Sirtuine. 6-Cl-THC-OEt (**165**) wurde erstmals von Napper *et al.* hergestellt und beschrieben. Aufgrund der Inaktivität gegenüber Sirt1 wurde Ethylester **165** jedoch in der Literatur nicht an Sirt2 getestet.^[275] In den Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Jung zeigte sich, dass Ester **165** (Eintrag 6) ein selektiver Sirt2 Inhibitor war ($IC_{50} = 4.5 \pm 1 \mu M$) und dessen Aktivität um 74% verringerte. Die freie Carbonsäure **176** (Eintrag 7) zeigte nur eine sehr schwach inhibierende Wirkung auf Sirt2. Der 7-BocHN-THC-OEt (**163b**) (Eintrag 8) steigerte die Aktivität von Sirt1 um fast 50% und die von Sirt3 um 25%. Dessen Regioisomer **163a** (Eintrag 9) sowie die Hydroxylester **163d** und **163c** (Einträge 10 und 11) zeigten keine Aktivität. Der Sulfonsäureester **173** zeigte bei einer Konzentration von 50 μM eine sehr geringe Aktivierung der Isoform Sirt2 von etwa 20% (Eintrag 12). Der Ether **163f** verringerte die Aktivität von Sirt2 um 21% (Eintrag 13). Durch Maskieren der NH-Funktion als *t*Butylcarbamate **174** war keine Modulation der Sirtuine 1, 2 oder 3 zu beobachten (Eintrag 14). Dies steht im Einklang mit der anhand der Kristallstruktur (Abbildung 5.5) in Kapitel 5.2 aufgestellten Hypothese, dass eine zwischen der NH-Gruppe und Gln228 ausgebildete Wasserstoffbrücke für die Inhibition der Sirtuine durch Tetrahydrocarbazole wichtig ist.

Die beim Ethylester **165** beobachtete erhöhte Selektivität gegenüber Sirt2 konnte durch Bestimmung der biologischen Aktivitäten der von J. Alex dargestellten Methyl- **183**, Benzyl- **184** und *i*Butyl-Ester **185** bestätigt werden (Abbildung 5.20). Diese verringerten die Aktivität von Sirt2 um etwa 50% (**183/184**), bzw. um 74% (**185**).

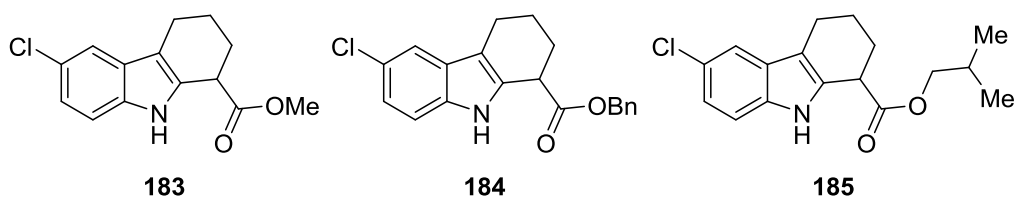


Abbildung 5.20: Von J. Alex hergestellte Ester, die Sirt2 selektiv inhibieren.

Interessanterweise steigerte das 7-BocHN-Derivat **163b** die Aktivität von Sirt1 um fast 50%, während der 6-BocHN-THC-OEt (**163a**) keine Aktivität zeigte. Aufgrund dessen, dass weder das 7-HO-Derivat **163d**, noch das TfO-Derivat **173** die Sirtuin Aktivität beeinflussten, ist zu vermuten, dass ein Wasserstoffbrücken-Akzeptor, bzw. eine sterisch anspruchsvolle Gruppe in der 7-Position die Aktivität des Sirtuins 1 erhöht.

Die durch Oxidation des potenten Sirt1-Inhibitors EX-527 (**157**) erhaltene Umkehr der Wirkung zum selektiven Aktivator **181**, durch den die Aktivität dieser Isoform um über 100% gesteigert wurde, war überraschend und bedarf ebenfalls weiterer Untersuchungen. Da eine Oxidation auf metabolischem Weg leicht eintreten sollte, und so aus einem Inhibitor ein Aktivator würde, eignet sich EX-527 nicht für die Untersuchung der Funktion von Sirt1 *in vivo*.

5.7 Fazit und Ausblick

In diesem Kapitel wurden mehrere Tetrahydrocarbazol- und Carbazol-Derivate über die Bischler-Möhlau-Indolsynthese dargestellt und auf deren biologische Aktivität gegenüber den Sirtuinen 1, 2 und 3 untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass diese Synthesemethode, unter milderen Reaktionsbedingungen, neben den zuvor bekannten F-, Cl-, Me- und MeO-substituierten Anilinen^[282-284,299] auch BocNH-Aniline und ungeschützte Aminophenole toleriert. Anhand von HPLC, LC-MS und NMR konnte die Autooxidation des Tetrahydrocarbazols EX-527 (**157**) beobachtet und nachgewiesen werden. Die Carbazole der Ester und Carboxamide konnten über die Oxidation mit DDQ erhalten werden, wobei das Schützen der aromatischen NH-Gruppe nicht nötig war.^[296,297] Einige der getesteten Tetrahydrocarbazole und Carbazole zeigten selektive Aktivierungen und Inhibierungen der untersuchten Isoformen.

Zur Bestätigung und Erweiterung der Struktur-Wirkungs-Beziehung, ist die Darstellung weiterer Derivate notwendig, wie die des 7-TfO-THC-OEtS. Weitere Substituenten könnten aus alternativen Syntheseansätzen dieser Heteroaromaten hervorgehen sowie durch andere Varianten der Kreuzkupplung aus den entsprechenden Triflaten oder Halogeniden erhalten werden.

6 Zusammenfassung

6.1 Totalsynthese von Urukthapelstatin A

In der vorliegenden Arbeit wurde die erste stereoselektive Totalsynthese von Urukthapelstatin A (**12**) beschrieben. Alle für diese Darstellung des Sekundärmetaboliten verwendeten Bausteine wurden von natürlich vorkommenden Aminosäuren abgeleitet. Insofern kann die Synthese als „biomimetisch“ bezeichnet werden. Die Schlüsselschritte dieser Synthese bildeten dabei die Makrozyklisierung des linearen Vorläufers **123**, die anschließende Darstellung des Pentaazols **121** über eine Aza-Wittig-Reaktion mit anschließender Oxidation (Abbildung 6.1) sowie die selektive Eliminierung zum Z-Enamid **12** (Abbildung 6.2).

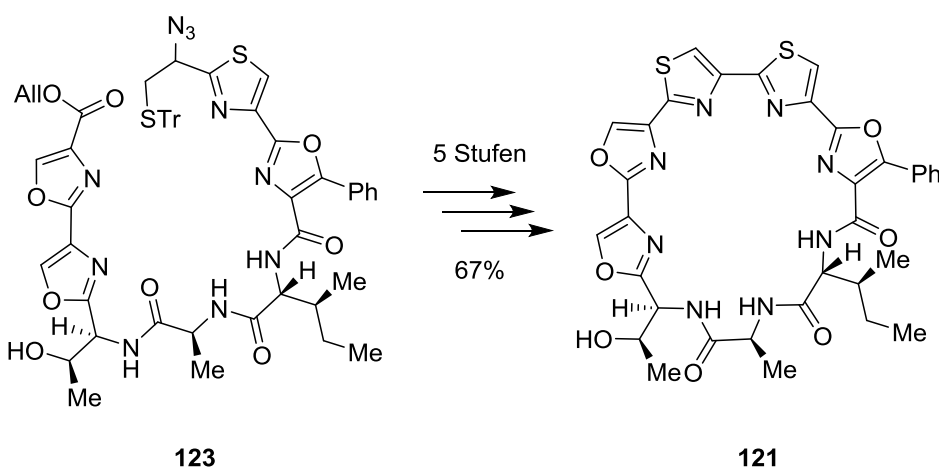


Abbildung 6.1: Durch Makrozyklisierung und Darstellung des zentralen Thiazols über eine Eintopf Aza-Wittig-Oxidations-Reaktion wurde Pentaazol **121** erhalten.

Nach Abspaltung der C- und S-terminalen Schutzgruppen erfolgte die Makrothiolactonisierung in guter Ausbeute. Aus der Aza-Wittig-Reaktion und der anschließenden Oxidation wurde Pentaazol **121** über 5 Stufen in einer Ausbeute von 67% erhalten (Abbildung 6.1). Die Makrothiolactonisierung sowie die anschließende Aza-Wittig-Reaktion und Oxidation bildeten in dieser Synthese die Schlüsselschritte. Gerade bei Makrozyklisierungen und Modifikationen von Makrozyklen, die zur Verkleinerung, bzw. Versteifung des Ringsystems führten, wurden häufig niedrige Ausbeuten oder Fehlschläge berichtet (Kapitel 2.3). Hierzu konnte durch die Verwendung des zentralen Thiazols als Position zur Ausbildung der makrozyklischen Struktur sowohl die Rigidität der flankierenden Bisazole, als auch die Flexibilität des peptidischen Rückrates für die Erhöhung der Reaktivität genutzt werden. Durch die Wahl der eingesetzten Reagenzien, deren Stöchiometrie und

der Optimierung der Reaktionsdurchführung, konnte dieser Schlüsselschritt mit einer hohen Ausbeute von 88% durchgeführt werden. Bei der anschließenden Ausbildung des zentralen Thiazols musste die damit einhergehende Erhöhung der Ringspannung durch Verkleinerung des Ringsystems und Vergrößerung der Rigidität durch die Entstehung eines pentaazolischen Systems überwunden werden. Für diese kritische Aufgabe erwies sich die Aza-Wittig-Reaktion aufgrund der dieser intrinsischen Triebkräfte, der Erzeugung von N_2 und der Oxophilie des Phosphors, als besonders effizient. Durch die Aza-Wittig-Reaktion und die anschließende Oxidation mit DBU und $BrCCl_3$ wurde Pentaazol **121** mit einer sehr guten Ausbeute von 79% über 2 Stufen erhalten. Eine Isolierung des schlecht löslichen Thiazolins **140** war ebenfalls nicht nötig.

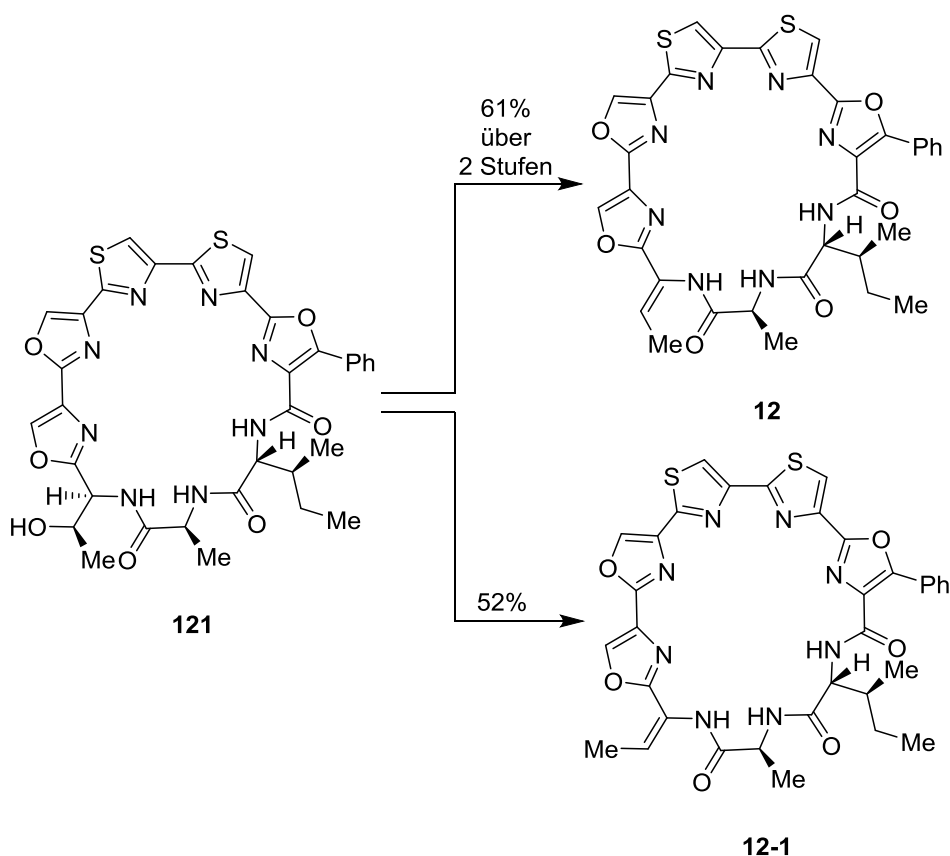


Abbildung 6.2: Selektive Darstellung des *Z*-Isomers **12** und des *E*-Isomers **12-1** des Naturstoffes Urukthapelstatin A.

Die Eliminierung zu Urukthapelstatin A (**12**), bzw. dessen Isomer **12-1** gelang, ausgehend von Pentaazol **121**, sowohl *Z*- als auch *E*-selektiv mit Ausbeuten von 61% über 2 Stufen, bzw. 52% (Abbildung 6.2). Das aus dem Amid **133-1** erhaltene Epimer des Alkohols **121** konnte ebenfalls in Urukthapelstatin A (**12**) sowie dessen *E*-Isomer **12-1** umgewandelt werden. Aus NMR- und HPLC-Studien wurde deutlich, dass das gebildete Enamid über die Zeit isomerisierte. Dies geschah sowohl im gepufferten neutralen, als auch leicht sau-

ren wässrigen Milieu, in Gegenwart von MeCN sowie in CH₂Cl₂ und CDCl₃. Anhand erneuter Messungen nach acht Monaten konnte ebenfalls gezeigt werden, dass das Gleichgewicht dieser beiden Isomere auf der Seite des Z-Isomeres liegt.

Die Totalsynthese von Urukthapelstatin A (**12**) erfolgte in insgesamt 38 Stufen mit einer Gesamtausbeute von 1.01%, die längste lineare Sequenz, ausgehend von Cystein, wies 21 Stufen und eine Ausbeute von 5.91% auf. Der modulare Aufbau der in dieser Arbeit entwickelten Totalsynthese von Urukthapelstatin A (**12**) sollte in Zukunft den Zugang zu Derivaten erlauben.

Erste Schritte dazu konnte A. Oberheide^[300] bereits während der Masterarbeit beschreiben. Anhand dieser und weiterer Derivate kann in Zukunft eine Struktur-Aktivitäts-Beziehung des Urukthapelstatin A (**12**) generiert werden.

6.2 Tetrahydrocarbazole als Sirtuin-Modulatoren

Darüber hinaus wurden in der vorliegenden Arbeit Tetrahydrocarbazole als potentielle Sirtuin-Modulatoren dargestellt. Diese sind für die Untersuchung der Funktionen der einzelnen Isoformen dieser Deacetylase innerhalb biologischer Systeme von besonderem Interesse. Durch die gezielte Modulation der Sirtuine *in vivo* und ohne vorherige genetische Modifikation der Zelle, ist eine zeitlich und lokal determinierte Untersuchung der Interaktionen möglich.^[29,301] Diese kann mit den zuvor durch Einsatz genetischer Methoden erhaltenen Daten verglichen werden.

Für die Darstellung der Tetrahydrocarbazol-Struktur von EX-527 (**157**) und dessen Derivaten wurde in dieser Arbeit eine mildere Variante der Bischler-Möhlau-Indolsynthese verwendet, wodurch dieses Eintopfverfahren auch für die Umsetzung einiger ungeschützter Substrate verwendet werden konnte.

Interessanterweise konnte bei der erneuten Aufnahme von HPLC-Chromatogrammen von EX-527 (**157**) nach längerer Lagerung die Bildung zweier weiterer Substanzen beobachtet werden. Eine der beiden wurde über synthetische Darstellung als Produkt einer langsam ablaufenden Autooxidation zu Carbazol **181** identifiziert, die andere über massenspektrometrische Analyse als einfach oxidiertes Dihydrocarbazol **186** postuliert (Abbildung 6.3).

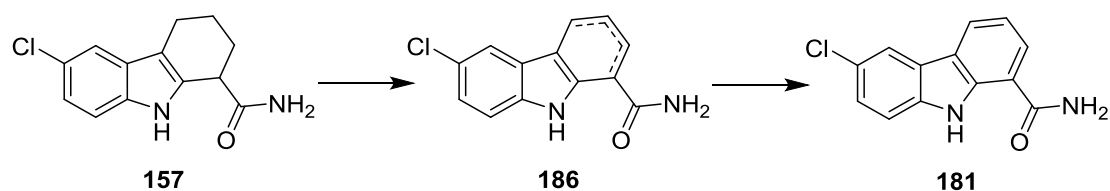


Abbildung 6.3: Beobachtete Autooxidation von EX-527 (**157**) zum Carbazol **181**. Indizien für die Präsenz des Dihydrocarbazols **186** wurden über massenspektrometrische Analysen gefunden.

Dieses und weitere Carbazole konnten über Oxidation mit DDQ, ohne vorheriges Schützen des aromatischen NHs erhalten werden. Anhand der in höheren Ausbeuten verlaufenden Oxidation der Ethylester **163**, gegenüber den Carboxamiden, wie beispielsweise EX-527 (**157**) konnte ebenfalls gefolgert werden, dass erstere über eine schnellere Autooxidationsrate verfügen müssen.

Die biologische Aktivität und Selektivität der in diesem Teil der Arbeit hergestellten, in 6- und 7-Position substituierten Tetrahydrocarbazole und Carbazole, erfolgte durch die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jung (Freiburg i. Br.).

Für EX-527 (**157**) konnte wie erwartet eine fast vollständige Inhibierung der Aktivität von Sirt1 beobachtet werden. Überraschenderweise zeigte dessen Carbazol-Derivat **181** eine ebenso starke Aktivierung dieser Isoform. Des Weiteren zeigten einige Ether der Tetrahydrocarbazole eine selektive Inhibierung des Sirtuins 2.

7 Ausblick

7.1 Totalsynthese von Urukthapelstatin A

Durch Vergleich der über Derivatisierung von Urukthapelstatin A (**12**) gewonnenen Daten mit den von Hernández *et al.*^[91] publizierten biologischen Aktivitäten einzelner Analoga des Mechercharstatin A (**14**) könnten erste Schlüsse über ein einheitliches oder unterschiedliches Wirkprofil dieser beiden Vertreter der YM-216391-Familie erhalten werden. Interessant wären hier, die Substitution des Phenylringes durch eine Methylgruppe oder ein Proton sowie der Austausch des *D-allo*-Isoleucins durch andere Isomere dieser Aminosäure. Auch der Austausch einzelner Oxazole durch Imidazole könnte interessant sein, da diese je nach pH in protonierter oder neutraler Form vorliegen. Der Öffnungswinkel β der Imidazole^[145] liegt mit etwa 139° zwischen dem der Thiazole und dem der Oxazole, daher sollte der Einfluss der veränderten Ringspannung auf die Effizienz der Makrozyklisierung gering sein.

Biologisch nicht oder wenig relevante Positionen könnten zur Darstellung chemischer Sonden verwendet werden. Durch Einbringen von Reportergruppen könnten Hinweise über den genauen Wirkungsmechanismus von Urukthapelstatin A (**12**) erhalten werden. Insofern die Struktur-Aktivitäts-Beziehung des Enamids (**12**) dem für Mechercharstatin A (**14**) beschriebenen^[91] entspräche, könnte die Position der Doppelbindung für die Einführung dieser Reportersubstanzen verwendet werden. Dies könnte wie in Abbildung 7.1 gezeigt über Michael-Addition **187** oder alternativ über nukleophile Substitution des Methansulfonsäureesters **188** erfolgen.

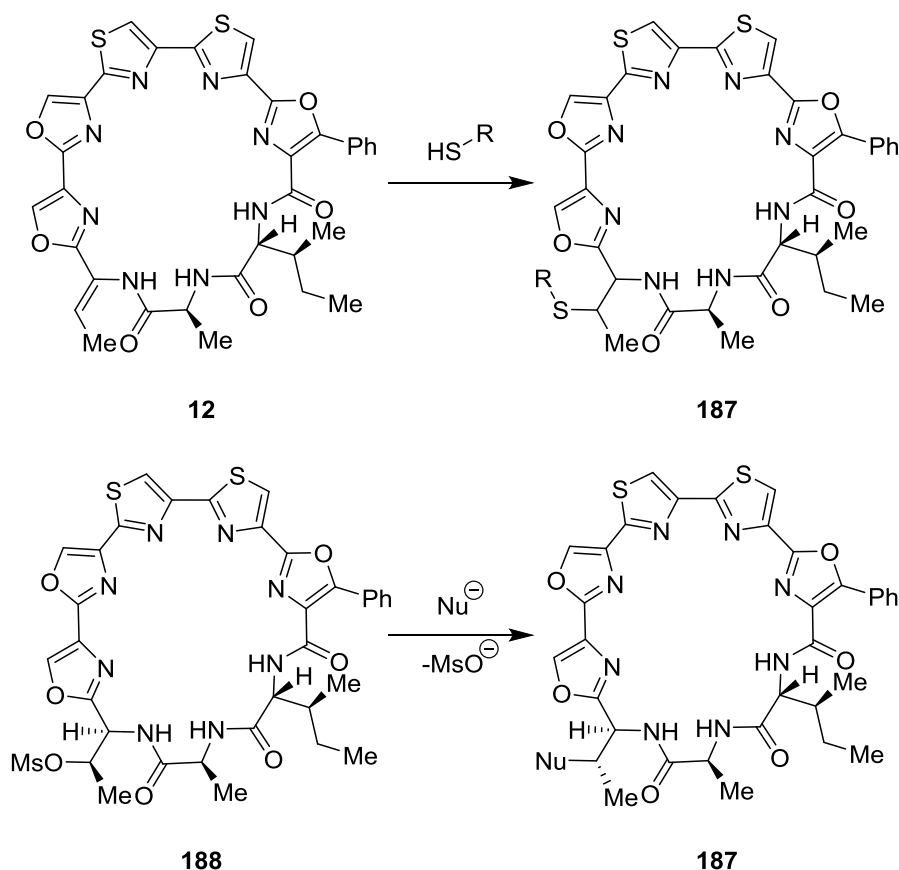


Abbildung 7.1: Möglichkeiten zur Modifikation der Position der Doppelbindung über Michael-Addition, oder nukleophile Substitution.

7.2 Tetrahydrocarbazole als Sirtuin-Modulatoren

Für die Entwicklung der Tetrahydrocarbazole und Carbazole zur selektiven Modulation der Sirtuine sollten zum einen weitere Derivate hergestellt und zum anderen eine breiter anwendbare Möglichkeit zur Darstellung der Carboxamidfunktion untersucht werden.

Für die Synthese weiterer Derivat eignet sich das bereits dargestellte 6-OTf-Tetrahydrocarbazol **173**. Dieses könnte mittels Kreuzkupplung, z. B. nach Suzuki^[302] zu 6-Aryl-Tetrahydrocarbazolen **189**, oder über Heck-Reaktion^[303] in die entsprechenden 6-Alkenyl-Tetrahydrocarbazole **190** überführt werden (Abbildung 7.2). Durch Darstellung des 7-OTf-Tetrahydrocarbazols **191** sollten Isomere der oben genannten Verbindungsklassen zugänglich sein.

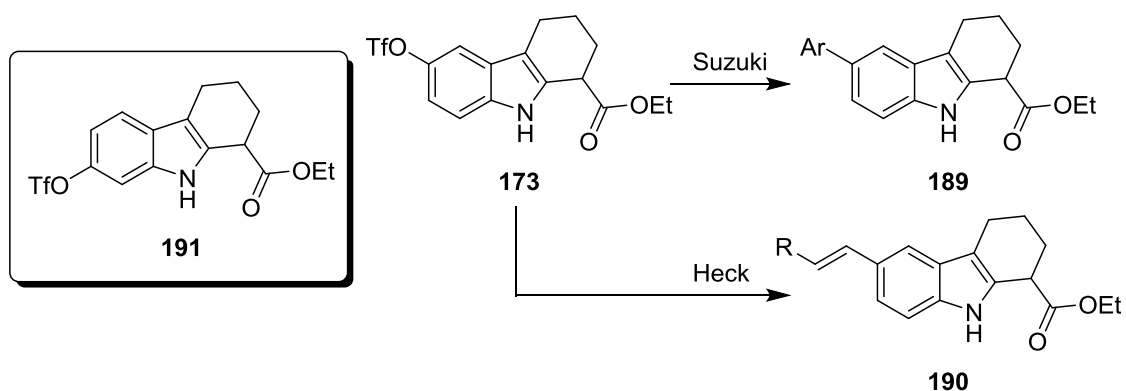


Abbildung 7.2: Darstellung weiterer Tetrahydrocarbazole durch Kreuzkupplung des Triflats **173**, oder **191** unter Suzuki-, oder Heck-Bedingungen zu den entsprechenden Aryl- **189**, oder Alkenyl-Tetrahydrocarbazolen **190**.

Von Interesse könnte auch die, von Prühs *et al.* berichtete, automatisierbare Darstellung von Tetrahydrocarbazolen über das Fischer-Indol-Verfahren am Rink-Amid-Harz sein (Abbildung 7.3).^[304] Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist, dass durch Abspaltung vom Harz Carboxamide gebildet werden.

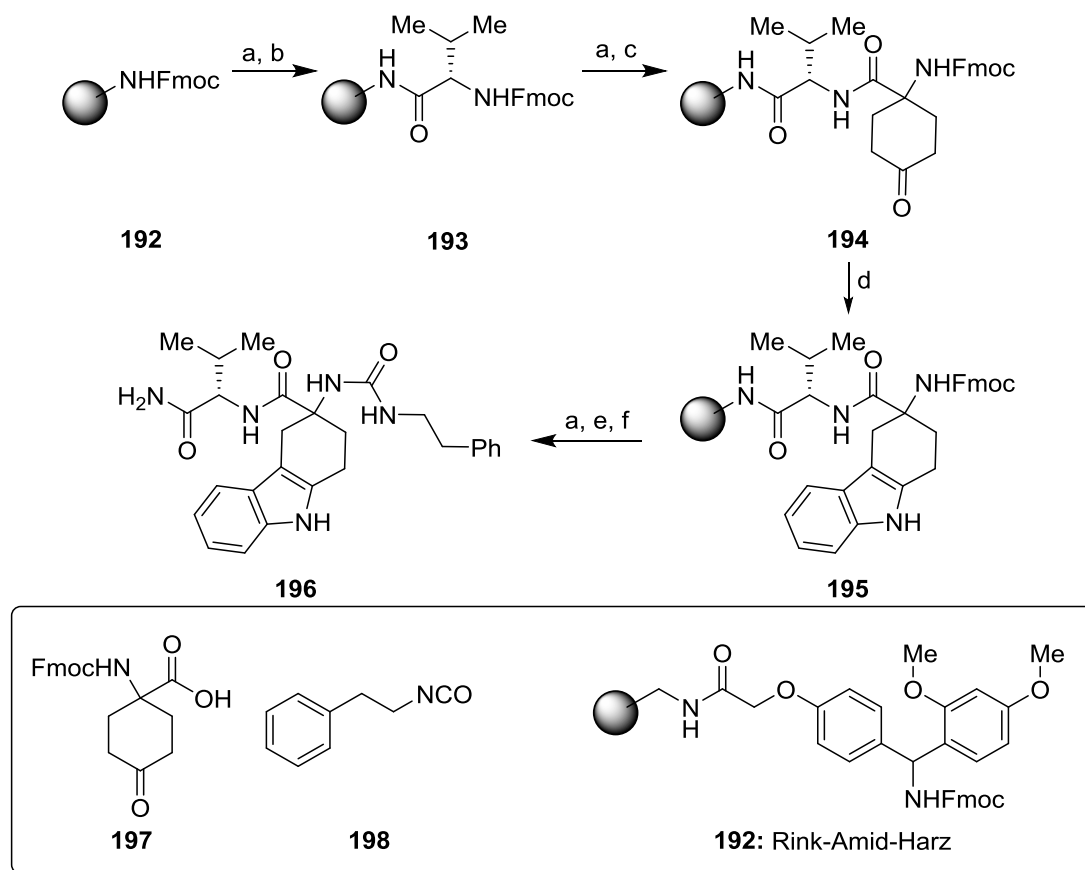


Abbildung 7.3: Darstellung des Tetrahydrocarbazols **196** an der festen Phase.^[304] Bedingungen: a) Piperidin, DMF; b) FmocHN-L-Val-OH, TBTU, NMM, DMF, 40 °C; c) **197**, TBTU, NMM, DMF, 40 °C; d) AcOH/NMP (7:1, v/v), PhNHNH₂, ZnCl₂; e) **198**, CH₂Cl₂; f) TFA/CH₂Cl₂ (1:4, v/v).

Insofern dieser Ansatz auch für die Darstellung von Tetrahydrocarbazolen über die Reaktionsführung von Bischler und Möhlau möglich ist, könnten über diese Methode mehrere Tetrahydrocarbazole gleichzeitig hergestellt und durch die Abspaltung vom Harz in entsprechende EX-527-Derivate überführt werden.

8 Experimenteller Teil

8.1 Methoden

8.1.1 Geräte und Verfahren

NMR-Spektroskopie: ^1H -, ^{19}F - und ^{13}C -Spektren wurden mit einem *Bruker Avance I 250* (^1H : 250 MHz, ^{13}C : 63 MHz), einem *Bruker Fourier 300* (^1H : 300 MHz, ^{13}C : 75 MHz), einem *Bruker Avance I 400* (^1H : 400 MHz, ^{19}F : 377 MHz, ^{13}C : 101 MHz) oder einem *Bruker Avance 600* (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 150 MHz) in deuteriertem Lösungsmittel aufgenommen. Die Restprotonen dieser Lösungsmittel wurden dabei als Referenz verwendet (CDCl_3 : $\delta_{\text{H}} = 7.27$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 77.0$ ppm; $\text{MeOH-}d_4$: $\delta_{\text{H}} = 3.31$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 49.0$ ppm; $\text{Aceton-}d_6$: $\delta_{\text{H}} = 2.05$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 29.8$ ppm, $\text{DMSO-}d_6$: $\delta_{\text{H}} = 2.50$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 39.5$ ppm). Die chemischen Verschiebungen (δ) sind in *parts per million* (ppm), die Kopplungskonstanzen (J) in Hz angegeben. Für die Signalmultiplizitäten wurden die folgenden Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), dd (Dublett von Dublett), dt (Dublett von Triplett), dq (Dublett von Quartett), ddd (Dublett von Dublett von Dublett), t (Triplett), q (Quartett), m (Multipllett) und br. s (breites Singulett). Die Zuordnung der ^1H - und ^{13}C -Signale sowie die räumliche Anordnung der Enamide erfolgten über 2D-Experimente (COSY, HSQC, HMBC, NOESY).

Massenspektrometrie (LC-MS): LC-MS-Spektren wurden mit einem *ESI-Ionenfallen-MS (Finnigan Mat LCQ)* aufgenommen, die Trennung erfolgte mit einem HPLC-System von *Shimadzu*. Säule: *EC 125/4 Nucleodur C18 Isis 3 μm (Macherey Nagel)*, Systemcontroller: *SLC-10A VP*, Säulenofen: *CTO-10AC VP*, Autosampler: *SIL-10AD VP*, Degaser: *DGU-14A*, 3 Pumpen: *LC-10AT VP*, UV-Vis-Detektor: *SPD-10A VP*, Splitter: *ICP 04-20 (Thermo Scientific)*. Als Eluenten wurden H_2O (Eluent A) und MeCN (Eluent B) mit jeweils 1 Vol.-% AcOH bei einer Flussrate von 1 mL/min verwendet. Die Detektion erfolgte über die UV-Vis Absorption bei 254 nm sowie über den Ionenstrom am Detektor.

Hochaufgelöste Masse (HR-MS): HR-MS-Spektren wurden mit der ESI-TOF-Anlage *maXis Impact (Bruker Daltronics, Bremen)* aufgenommen. Die Proben wurden entweder direkt injiziert, oder über eine HPLC-Säule getrennt. Säule: *EC 150/3 Nucleodur C4 5 μm (Macherey Nagel)*. Als Eluenten wurden H_2O (Eluent A) und MeCN (Eluent B) verwendet.

IR-Spektroskopie (FT-IR): Fourier transformierte IR-Spektren wurden an einem *IRAffinity 1* (Shimadzu) mit ATR Einheit gemessen.

Schmelzpunktbestimmung: Die Schmelzpunkte wurden an einem *Büchi B-545* Schmelzpunktmeßgerät mit offenen Kapillaren gemessen und nicht korrigiert.

Spezifische optische Drehung: Die optischen Drehungen wurden an einem *Jasco P-2000* Polarimeter bei 589 nm gemessen (Küvettenlänge: 0.1 dm). Konzentration c in g/100 mL, Temperatur und verwendetes Lösungsmittel (*p.a.*) wurden für jede Messung angegeben.

Elementaranalyse: Die Elementaranalyse wurde am Elementaranalysator *Eurovector* der Firma *HEKAtech* durchgeführt.

8.1.2 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie (DC): Die Dünnschichtchromatographie wurde auf beschichteten Aluminium-Platten (*Merck Kieselgel 60, F254*) durchgeführt. Die Detektion erfolgte mit UV-Licht (254, bzw. 366 nm), sowie behandeln der Platten mit den folgenden Reagenzien und anschließendem Erwärmen:

KMnO₄-Lösung: 2.00 g KMnO₄, 13.2 g K₂CO₃, 165 mg NaOH, 200 mL H₂O

Ninhydrin-Lösung: 300 mg Ninhydrin, 100 mL EtOH, 2.00 mL AcOH

Phosphomolybdat-Lösung: 2.00 g Molybdatophosphorsäure in 100 mL EtOH

Ellmans Reagenz: 1 mM 5,5'-Dithiobis-2-(2-nitrobenzoesäure), 50 mM Tris-HCl in H₂O

Säulenchromatographie: Isolierungen wurden mit Kieselgel (*Macherey Nagel MN Kieselgel 60 M*, Partikelgröße 40-60 µm) und einem Druck von etwa 0.4 bar durchgeführt.^[305]

Analytische HPLC („reverse Phase“): Für die Analysen wurden zwei verschiedene Systeme verwendet. Die Methoden A-E wurden an einem *Varian Prostar System*, bestehend aus folgenden Komponenten durchgeführt: 2 Pumpen: *ProStar 230*, Autosampler: *ProStar 410*, Säulenwechsler: *Reodyne LabPRO*, UV-Vis-Detektor: *ProStar 335*, Trennsäulen: *CC125/4 Nucleodur C18 Gravity 3 µm* und *EC 125/4 Nucleodur C18 Isis 3 µm* (beide *Macherey Nagel*). Als Eluenten wurden MeCN (*VWR*) und H₂O verwendet.

Die Methoden F-J wurden an einem System der Firma *Shimadzu* durchgeführt, das aus den folgenden Komponenten bestand: Controller: *SLC-10A VP*, Säulenofen: *CTO-10AC VP*, Auto-injektor: *SIL-10AD VP*, Entgaser: *DGU-14A*, 3 Pumpen: *LC-10AT VP*, Fluoreszenz-Detektor: *RF-10A XL*, Diodenarray-Detektor: *SPD-M20A* und UV-Vis-Detektor: *SPD-10A VP*, Trennsäule: *EC125/4 Nucleodur C18 Gravity 5 µm* (*Macherey Nagel*). Als

Eluenten wurden MeCN (Eluent A), H₂O (Eluent B) und 2 Vol.-% TFA (*VWR*) in H₂O (Eluent C) verwendet.

Methode A: *C18 Gravity 3 μm*, Gradient: 1 min 10% MeCN, 10 min 10-95% MeCN, 3 min 95% MeCN, 3 min 10% MeCN, 1 mL/min.

Methode B: *C18 Isis 3 μm*, Gradient: 1 min 10% MeCN, 10 min 10-95% MeCN, 3 min 95% MeCN, 3 min 10% MeCN, 1 mL/min.

Methode C: *C18 Isis 3 μm*, Gradient: 1 min 10% MeCN, 13 min 10-95% MeCN, 2 min 95% MeCN, 2 min 10% MeCN, 1 mL/min.

Methode D: *C18 Gravity 3 μm*, Gradient: 1 min 10% MeCN, 11 min 10-95% MeCN, 8 min 95% MeCN, 5 min 10% MeCN, 1 mL/min.

Methode E: *C18 Gravity 5 μm*, Gradient: 1 min 30% MeCN, 14 min 30-100% MeCN, 5 min 100% MeCN, 5 min 30% MeCN. 1 mL/min.

Methode F: *C18 Gravity 5 μm*, Gradient: 10 min 10-95% MeCN, 10 min 95% MeCN, 5 min 10% MeCN. 1 mL/min, Konstant: 5% C.

Methode G: *C18 Gravity 5 μm*, Gradient: 10 min 50-95% MeCN, 10 min 95% MeCN, 5 min 50% MeCN. 1 mL/min, Konstant: 5% C.

Methode H: *C18 Gravity 5 μm*, Gradient: 10 min 30-95% MeCN, 10 min 95% MeCN, 5 min 30% MeCN. 1 mL/min, Konstant: 5% C.

Methode I: *C18 Gravity 5 μm*, Gradient: 10 min 10-95% MeCN, 10 min 95% MeCN, 5 min 10% MeCN. 1 mL/min.

Methode J: *C18 Gravity 5 μm*, Gradient: 2 min 30% MeCN, 0.5 min 30-60% MeCN, 12.5 min 60% MeCN, 0.5 min 60-95% MeCN, 4.5 min 95% MeCN, 0.5 min 95-30% MeCN, 1.5 min 30% MeCN. 1 mL/min, Konstant: 5% C.

Präparative HPLC: Zur präparativen Trennung wurde ein Modell der Firma *Varian* verwendet: Pumpe: *ProStar 215*, UV-Vis-Detektor: *ProStar 340*, Fraktionssammler: *ProStar 701*, Trennsäule: *VP250/21 Nucleodur C18 Gravity 5 μm*. Die Elution erfolgte durch MeCN und H₂O.

Methode zur Trennung der *E*-/*Z*-Isomere von Urukthapelstatin A: Gradient: 2 min 50% MeCN, 68 min 50-100% MeCN, 10 min 100% MeCN. 25 mL/min.

8.1.3 Reagenzien und Lösungsmittel

Reagentien wurden von den Firmen *Acros Chemicals*, *Alfa Aesar*, *Apollo Scientific*, *ABCR*, *Carbolution Chemicals*, *Carbosynth*, *Grüssing*, *Manchester Organics*, *Merck*, *No-*

vabiochem, *Sigma-Aldrich*, *TCI Europe* oder *VWR* bezogen und soweit nicht anders angegeben, ohne weitere Reinigung für die Synthese verwendet.

Sofern nicht anders beschrieben wurden alle Umsetzungen in ausgeheizten Glasgeräten unter Schutzgasatmosphäre und mit wasserfreien Lösungsmitteln durchgeführt. Änderungen werden durch dem Ausdruck „unter Ar-Atmosphäre“ (nicht ausgeheizte Glasgeräte) beschrieben. Für alle Experimente wurde deionisiertes Wasser verwendet. Zu entgasende Lösungsmittel wurden 3x im Ultraschall und unter Vakuum entgast und nach jedem Zyklus mit Ar durchgespült.

CH_2Cl_2 , 2,6-Lutidin, Benzol und Pyridin wurden von CaH_2 abdestilliert. CH_2Cl_2 wurde anschließend unter N_2 -Atmosphäre für maximal eine Woche gelagert. 2,6-Lutidin, Benzol und Pyridin wurden mit aktiviertem Molekularsieb (4 Å) gelagert. Tetrahydrofuran wurde für mindestens 20 h mit KOH behandelt, abdekantiert, anschließend von blauem Natrium/Benzophenon abdestilliert und innerhalb von 4 d verwendet. CuCl_2 wurde bei 10^{-3} mbar für 3-4 h auf 150 °C erhitzt und anschließend unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss gelagert. CuCl ,^[306] DBU und MsCl ^[307] wurden wie in der Literatur beschrieben gereinigt.

Die folgenden Verbindungen wurden analog einer bekannten Literaturvorschrift dargestellt: *L*-Boc-Ser(TBS)-OH^[148], Amin **6**,^[127] *para*-Benzyloxyanilin,^[308] mono-Boc-*meta*-Phenylendiamin und mono-Boc-*para*-Phenylendiamin.^[309]

8.1.4 Pufferlösungen

Phosphatpuffer (pH 3): 13.8 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 1 L H_2O , mit H_3PO_4 auf pH 3 eingestellt.

Phosphatpuffer (pH 7): 58.0 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 103 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, aufgefüllt auf 1 L mit H_2O .

TES-Puffer (pH 7.5): 20 mM TES in H_2O .

8.1.5 ZMAL-Assay

Der von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jung (Freiburg i. Br.) durchgeführte ZMAL-Assay basiert auf dem gleichnamigen Substrat, Z-Lys(Ac)-AMC, wobei AMC für den verwendeten Fluoreszenzfarbstoff 7-Amino-4-Methylcoumarin steht. Das Z-Lys(Ac)-AMC wird von den Sirtuinen als Substrat erkannt und deacetyliert. Durch anschließenden tryptischen Verdau wird das Coumarin freigesetzt und über dessen Fluoreszenzintensität quantifiziert. Auf diese Weise kann die Umsetzung des Substrats verfolgt und somit die

katalytische Aktivität der Sirtuine bestimmt werden. Inhibitoren unterdrücken die Deacetylasefunktion der Sirtuine und somit eine Abnahme der Signalintensität bewirken. Aktivatoren haben dagegen eine Zunahme der Fluoreszenz zur Folge.^[184,310]

8.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

Beladung des Tritylchlorid-Harzes mit einer Aminosäure (AV1):

Für die Festphasensynthese (AV1-AV5) wurden keine wasserfreien Lösungsmittel oder ausgeheizten Reaktionsgefäße verwendet. Alle in diesen Arbeitsvorschriften gemachten Angaben beziehen sich auf die Durchführung mit einem Gramm Harz (max. Beladung: 1.4 mmol/g).

Das Tritylchlorid-Harz wurde für 5 min mit CH₂Cl₂ (3x 8.5 mL) und *t*Butylmethylether (8.5 mL) gewaschen und anschließend mit CH₂Cl₂ (7 mL) für 30 min gequollen. Nach Ablassen des Lösungsmittels wurde dem Harz eine Lösung aus *L*-FmocHN-Thr(*t*Bu)-OH (560 mg), EtNiPr₂ (700 µl) in CH₂Cl₂/DMF (5 mL) zugegeben und die Suspension für 7 h geschüttelt. Anschließend wurde das Harz vom Reaktionsgemisch abfiltriert und mit CH₂Cl₂ (3x 5 mL) und *t*Butylmethylether (5 mL) gewaschen. Das Harz wurde für 1 h mit einer Lösung aus CH₂Cl₂/MeOH/EtNiPr₂ (5 mL, 17:2:1, v/v/v) geschüttelt, danach mit CH₂Cl₂ (3x 5 mL) und *t*Butylmethylether (5 mL) gewaschen und getrocknet. Nach 1 h i.V. wurde das Harz unter Ar bei –25 °C aufbewahrt.

Beladungsbestimmung durch Fmoc-Spaltung (AV2):

Eine genau eingewogene Menge an trockenem Harz (ca. 10 mg) wurde in einem Messkolben vorgelegt und für 30 min mit Piperidin (20 Vol.-% in DMF, 5 mL) gerührt. Anschließend wurden 80 µL der Reaktionsmischung entnommen, mit Piperidin (20 Vol.-% in DMF, 720 µL) verdünnt und die Absorption gegenüber einer Referenzprobe (800 µL Piperidin, 20 Vol.-% in DMF) bei 290 und 301 nm bestimmt. Anhand von Formel (1) und den Extinktionskoeffizienten ($\epsilon_{290} = 4950$; $\epsilon_{301} = 7800$) wurde die Harzbeladung bestimmt:

$$\text{Beladung} \left[\frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right] = \frac{A_{\lambda} \cdot 50000}{\epsilon_{\lambda} \cdot \text{Schichtdicke Küvette [cm]} \cdot m[\text{mg}]} \quad (1)$$

Kaiser-Test zur Bestimmung der Vollständigkeit der Amidsynthese (AV3):^[311]

Zur Bestimmung der Vollständigkeit einer Peptidkn pfung am festen Träger, wurde eine Spatelspitze des Harzes (ca. 1 mg) zunächst mit CH₂Cl₂ (3x 1 mL) und MeOH (1 mL) gewaschen, mit jeweils einem Tropfen der Reagentien I (0.5 g Ninhydrin in 2 mL EtOH), II (8 g Phenol in 2 mL EtOH) und III (0.2 mL KCN [wässrige 0.001 M Lösung] in 9.8 mL Pyridin) versetzt und für 5 min auf 90-100 °C erwärmt. Bei einer Blaufärbung des Harzes

war die Reaktion noch nicht vollständig. Trat keine Verfärbung ein, wurde die Reaktion beendet und die Reaktionsmischung abfiltriert.

Fmoc-Entschützung (AV4):

Das gequollene Harz wurde für 6 min mit Piperidin (20 Vol.-% in DMF, 5 mL) geschüttelt, mit CH₂Cl₂ (3x 4 mL) und DMF (4 mL) gewaschen, für 16 min mit Piperidin (20 Vol.-% in DMF, 5 mL) geschüttelt, sowie mit CH₂Cl₂ (3x 4 mL) und DMF (4 mL) gewaschen.

Amidknüpfung an fester Phase (AV5):

Das gequollene Harz wurde mit einer Lösung der entsprechenden geschützten Aminosäure (1.4 Äq.), HBTU (1.4 Äq.), HOBt (1.4 Äq.) und Et₃NiPr₂ (2.4 Äq.) in DMF (0.08 M) versetzt und bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach negativem Kaiser-Test (AV3) wurde die Reaktionslösung abfiltriert und das Harz mit CH₂Cl₂ (3x 4 mL) sowie *t*-Butylmethylether (4 mL) gewaschen. Nach einmaligem Wiederholen der Waschschrirte wurde das Harz für 1 h i.V. getrocknet und unter Ar bei –25 °C eingefroren.

Darstellung von TfN₃ für den Azidtransfer (AV6):^[150]

NaN₃ (600 mol% pro Aminogruppe) wurde in H₂O/CH₂Cl₂ (1:1, 4 M) suspendiert und bei –20 °C gerührt. Tf₂O (300 mol% pro Aminogruppe) wurde zugegeben und das Gemisch für 2 h bei 0 °C intensiv gerührt. Eiskalte gesättigte NaHCO₃-Lösung (200 Vol.-% der Reaktionsmischung) wurde langsam zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch mit eiskaltem CH₂Cl₂ (2x 250% des Volumens an CH₂Cl₂ im Reaktionsansatz) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit eiskalter gesättigter NaHCO₃-Lösung (100 Vol.-% der Reaktionsmischung) gewaschen und die so erhaltene Lösung von TfN₃ in CH₂Cl₂ ohne weitere Isolierung für den Azidtransfer verwendet.

Darstellung von Tetrahydrocarbazolen aus Anilinderivaten (AV7):^[286]

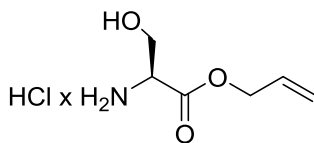
Anilinderivat (2 mmol) und α-Bromketon **30** (1 mmol) wurden in entgastem EtOH (1 mL) gelöst und bei 85 °C bis zum vollständigen Umsatz (3-21 h) gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung abgekühlt und i.V. eingeengt. Der Rückstand wurde mit EtOAc (5 mL) und Phosphatpuffer (pH 3, 5 mL) aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch mit EtOAc (2x 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie wurde das entsprechende Tetrahydrocarbazol erhalten.

Darstellung von Carbazolen aus Tetrahydrocarbazolen durch Oxidation mit DDQ (AV8):^[296]

Tetrahydrocarbazol (1.00 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (28 mL) gelöst und mit DDQ (2.31 mmol) versetzt. Die erhaltene Suspension wurde bis zur Vollständigkeit (4-16 h) bei 45 °C gerührt. Nach Abkühlen, abfiltrieren und Säulenchromatographie wurde das entsprechende Carbazol erhalten.

8.3 Darstellung von Urukthapelstatin A

Serinmethylester Hydrochlorid



87

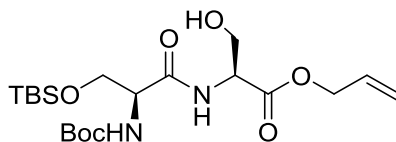
Eine Suspension von fein gepulvertem *L*-Serin (25.3 g, 240 mmol) in Allylalkohol (420 mL, 6.17 mol) wurde bei 0 °C tropfenweise mit Thionylchlorid (420 mL, 6.17 mol) versetzt und für 8 h bei 60 °C gerührt. Danach wurde bei RT für 12 h gerührt und die Suspension mit Et₂O (800 mL) versetzt. Nach Filtrieren der Suspension wurden die im Filterkuchen enthaltenen Produktrückstände mit Aceton (300 mL) extrahiert und mit dem Filtrat kombiniert. Die flüchtigen Bestandteile wurden i.V. entfernt und der erhaltene Rückstand im Folgenden mit eiskaltem MeOH (80 mL) versetzt. Durch Filtration der erhaltenen Lösung und anschließendes Einengen i.V. wurde Allylester **87** (36.7 g, 85%) als leicht gelbes Harz erhalten und ohne weitere Isolierung im nächsten Schritt eingesetzt.

DC: $R_f = 0.38$ (CHCl₃/MeOH/NEt₃ = 18:1:1).

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃; δ = 5.89-6.02 (m, 1 H, 2'-H₁), 5.37 (dq, J = 17.2, 1.5 Hz, 1 H, 3'-H_{2A}), 5.26 (dd, J = 10.5, 1.5 Hz, 1 H, 3'-H_{2B}), 4.71-4.75 (m, 2 H, 1'-H₂), 4.15 (t, J = 3.9 Hz, 1 H, α -H), 3.93-4.00 (m, 2 H, β -H₂) ppm.

¹³C-NMR: 63 MHz, CDCl₃; δ = 168.8 (C=O_{Allyl}), 132.8 (C-2'), 119.6 (C-3'), 68.1 (C-1'), 60.8 (C _{β}), 56.3 (C _{α}) ppm.

(*N*-Boc-*O*-TBS-SerinyI)-Serinallylester



88

L-BocHN-Ser(TBS)-OH^[148] (59.0 g, 185 mmol) und *L*-Ser-OAll x HCl (**87**) (40.2 g, 222 mmol) wurden in CH₂Cl₂/DMF (1300/25 mL) gelöst und bei 0 °C mit HOBt (27.4 g, 203 mmol), EDC x HCl (38.9 g, 203 mmol) und NEt₃ (51.3 mL, 369 mmol) versetzt. Nach 19 h Rührens bei RT wurde Phosphatpuffer (pH 3, 600 mL) zugegeben, die entstehenden Phasen getrennt und die wässrige Phase noch mit CH₂Cl₂ (6x 500 mL) extrahiert. Die ver-

einigten organischen Phasen wurden mit MgSO_4 entwässert und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie des gelben Rückstands (1 kg Kieselgel, Petrolether/Aceton = 4:1) wurde das Dipeptid **88** als farbloses Öl erhalten (62.7 g, 76%).

DC: $R_f = 0.34$ (Petrolether/Aceton = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 7.35$ (d, $J = 6.9$ Hz, 1 H, NH_{Amid}), 5.82-5.99 (m, 1 H, $2''\text{-H}_1$), 5.17-5.45 (m, 3 H, $3''\text{-H}_2$, NH_{Boc}), 4.68 (d, $J = 5.8$ Hz, 3 H, $1'\text{-H}_2$, $\alpha\text{-H}$), 4.12-4.15 (m, 1 H, $\alpha'\text{-H}$), 4.03 (dd, $J = 9.9$, 4.1 Hz, 1 H, $\beta'\text{-H}_{2A}$), 3.93-3.99 (m, 2 H, $\beta\text{-H}_2$), 3.73 (dd, $J = 9.8$, 6.1 Hz, 1 H, $\beta'\text{-H}_{2B}$), 1.86 (br. s, 1 H, OH), 1.46 (s, 9 H, O-*t*Bu), 0.89 (s, 9 H, Si-*t*Bu), 0.09 (s, 6 H, Si-(CH_3)₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 63 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 171.0$ ($\text{C}=\text{O}_{\text{Allyl}}$), 169.7 (CONH), 155.4 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Boc}}$), 131.3 ($\text{C-}2''$), 119.3 ($\text{C-}3''$), 80.4 (O- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 66.3 ($\text{C-}3'$), 63.3 ($\text{C-}1''$), 55.1 ($\text{C-}2'$), 51.9 ($\text{C-}2$), 28.3 (O- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 26.9 ($\text{C-}3$), 25.7 (Si- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 (Si- $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), -3.6 (Si- CH_3), -5.5 (Si- CH_3) ppm.

HPLC: Methode B; $t_R = 7.47$ min.

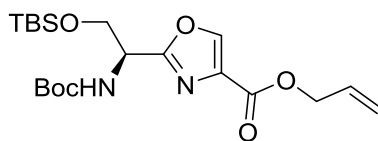
HRMS: Ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_7\text{Si}$: 447.2521; gef.: 447.2528.

MS (ESI+): m/z : 464.6 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 364.5 $[\text{M}+\text{NH}_4\text{-Boc}]^+$, 347.5 $[\text{M}+\text{H-Boc}]^+$.

IR: $\nu = 3441, 3009, 2970, 2855, 1735, 1443, 1366, 1211, 1111, 833, 779$ cm^{-1} .

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D = +42.0$ (CHCl_3 , $c = 1.04$, $T = 23$ °C).

(1'S)-2-(1'-N-Boc-2'-O-TBS-ethyl)-oxazol-4-carbonsäureallylester



89

Das Dipeptid **88** (10.2 g, 23.0 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (250 mL) gelöst und bei -78 °C tropfenweise mit DAST (3.35 mL, 25.3 mmol) versetzt. Die erhaltene Lösung wurde über 3 h auf RT erwärmt, dann auf -40 °C gekühlt und mit K_2CO_3 (6.37 g, 49.1 mmol) versetzt. Anschließend wurde für 30 min bei -40 °C, dann für 15 min bei RT gerührt und die Reaktion mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (150 mL) versetzt. Die erhaltenen Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase noch mit CH_2Cl_2 (3x 40 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Na_2SO_4 entwässert. Nach Entfernen des Lösungsmittels i.V.

wurde das rohe Oxazolin erhalten und ohne weitere Charakterisierung in der nächsten Stufe eingesetzt.

DC: $R_f = 0.53$ (Petrolether/Aceton = 4:1).

Bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde eine Lösung aus DBU (8.32 mL, 55.8 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) tropfenweise zum oben hergestellten Oxazolin (23.0 mmol) in CH_2Cl_2 (110 mL) zugegeben. Nach 40 min wurde eine Lösung aus BrCCl_3 (3.25 mL, 33.0 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ zugetropft. Anschließend wurde die Reaktionsmischung über 3 h auf RT erwärmt. Nach insgesamt 5 h wurde die Lösung auf $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt und Phosphatpuffer (pH 3, 120 mL) zugegeben. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x 90 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (300 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 4:1) wurde Oxazol **89** als farbloses Öl erhalten (6.7 g, 68% über 2 Stufen).

DC: $R_f = 0.66$ (Petrolether/Aceton = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$: 250 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.20$ (s, 1 H, 5-H), 5.94-6.07 (m, 1 H, 2''-H), 5.52 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, NH_{Boc}), 5.33 (ddd, $J = 26.1, 14.3, 1.3$ Hz, 2 H, 3''-H₂), 5.01 (d, $J = 3.4$ Hz, 1 H, 1'-H), 4.83 (td, $J = 5.8, 1.2$ Hz, 2 H, 1''-H₂), 4.06 (dd, $J = 8.4, 3.0$ Hz, 1 H, 2'-H_{2A}), 3.93 (dd, $J = 8.4, 3.0$ Hz, 1 H, 2'-H_{2B}), 1.46 (s, 9 H, O-*t*Bu), 0.81 (s, 9 H, Si-*t*Bu), -0.01 (s, 3 H, Si-CH₃), -0.04 (s, 3 H, Si-CH₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 163.9$ (C=O_{Allyl}), 160.8 (C-2), 155.2 (C=O_{Boc}), 144.1 (C-5), 133.4 (C-4), 131.7 (C-2''), 119.0 (C-3''), 80.2 (O-C(CH₃)₃), 65.7 (C-2'), 64.5 (C-1''), 51.2 (C-1'), 29.4 (O-C(CH₃)₃), 25.7 (Si-C(CH₃)₃), 18.1 (Si-C(CH₃)₃), -5.6 (Si-CH₃) ppm.

HPLC: Methode B; $t_R = 11.87$ min.

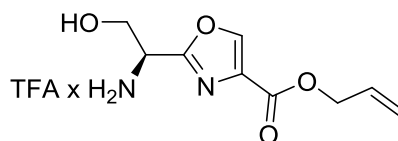
HRMS: Ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$: 427.2259; gef.: 427.2272.

MS (ESI+): m/z : 875.4270 $[\text{2M}+\text{Na}]^+$, 853.4472 $[\text{2M}+\text{H}]^+$, 427.2272 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 371.1652 $[\text{M}+\text{H-OAll}]^+$, 327.1742 $[\text{M}+\text{H-Boc}]^+$.

IR: $\nu = 3356, 2904, 2855, 1721, 1505, 1250, 1160, 1112, 988, 833, 779\text{ cm}^{-1}$.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D = -12.2$ (CHCl_3 , $c = 0.5$, $T = 24\text{ }^{\circ}\text{C}$).

(1'S)-2-(1'-Ammonium-2'-hydroxyethyl)-oxazol-4-carbonsäureallylester-Trifluoracetat



125

Eine Lösung von Oxazol **89** (6.61 g, 15.5 mmol) in TFA (60 mL) und H₂O (6 mL) wurde für 14 h bei RT gerührt. Toluol (100 mL) wurde hinzugegeben und die Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand mit MeOH (200 mL) versetzt und das Lösungsmittel erneut i.V. entfernt. Aus dem erhaltenen Rückstand konnte Aminoalkohol **125** über Kieselgelfiltration (Petrolether/Aceton = 9:1, dann 100% Aceton) als bernsteinfarbener Schaum isoliert (4.79 g, quant.) und ohne weitere Isolierung im nächsten Schritt verwendet werden.

DC: $R_f = 0.71$ (Aceton).

¹H-NMR: 250 MHz, MeOD-d₄; δ = 8.68 (s, 1 H, 5-H), 5.94-6.10 (m, 1 H, 2''-H), 5.34 (ddd, J = 26.1, 14.3, 1.3 Hz, 2 H, 3''-H₂), 4.81 (td, J = 5.7, 1.4 Hz, 2 H, 1''-H₂), 4.73 (t, J = 4.8 Hz, 1 H, 1'-H), 4.06 (d, J = 4.8 Hz, 2 H, 2'-H₂) ppm.

¹³C-NMR: 63 MHz, MeOD-d₄; δ = 162.1 (C=O_{Allyl}), 160.7 (C-2), 147.6 (C-5), 134.7 (C-4), 133.2 (C-2''), 119.2 (C-3''), 67.0 (C-1''), 61.4 (C-2'), 51.9 (C-1') ppm.

¹⁹F-NMR: 377 MHz, CDCl₃; δ = -76.0 (CF₃) ppm.

HPLC: Methode F; t_R = 8.56 min.

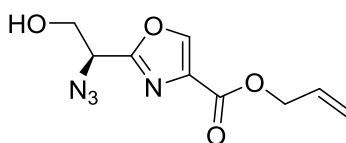
MS (ESI+): m/z : 213.4 [M+H]⁺.

HRMS: Ber. für C₉H₁₃N₂O₄: 213.0869; gef.: 213.0870.

IR: ν = 2960, 1723, 1662, 1591, 1378, 1183, 1132, 978, 798, 722 cm⁻¹.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D = -9.9$ (CHCl₃, c = 1, T = 24 °C).

Smp.: 56 °C

(1'S)-2-(1'-azido-2'-hydroxyethyl)-oxazol-4-carbonsäureallylester**84**

Unter N₂-Atmosphäre wurden Aminoalkohol **125** (1.65 g, 5.35 mmol) und ZnSO₄ (65.0 mg, 0.40 mmol) in MeOH und H₂O (39 mL, 2:1) gelöst und bei 0 °C tropfenweise mit NEt₃ (3.24 mL, 23.4 mmol) und einer nach AV6 hergestellten Lösung aus TfN₃ in CH₂Cl₂ versetzt. Die homogene Lösung wurde für 2 h bei RT gerührt und anschließend mit Phosphatpuffer (pH 3, 40 mL) hydrolysiert. Die erhaltenen Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (4x 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (50 mL) gewaschen, mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 3:1) wurde Azid **84** als leicht gelbes Öl erhalten (943 mg, 74%).

DC: $R_f = 0.23$ (Petrolether/Aceton = 4:1).

¹H-NMR: 250 MHz, CDCl₃; δ = 8.29 (s, 1 H, 5-H), 5.85-6.09 (m, 1 H, 2''-H), 5.36 (ddd, J = 26.1, 14.3, 1.3 Hz, 2 H, 3''-H₂), 4.82 (d, J = 5.8 Hz, 2 H, 1''-H₂), 4.72 (t, J = 5.8 Hz, 1 H, 1'-H), 4.12 (d, J = 5.8 Hz, 2 H, 2'-H₂), 2.76 (br. s, 1 H, OH) ppm.

¹³C-NMR: 63 MHz, CDCl₃; δ = 160.8 (C=O_{Allyl}), 160.4 (C-2), 144.9 (C-5), 133.2 (C-4), 131.3 (C-2''), 119.4 (C-3''), 66.1 (C-1''), 62.8 (C-1'), 58.9 (C-2') ppm.

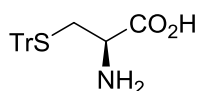
HPLC: Methode B; t_R = 6.01 min.

HRMS: Ber. für C₉H₁₁N₄O₁₀: 239.0775; gef.: 239.0775.

MS (ESI+): m/z : 239.0775 [M+H]⁺, 261.0595 [M+Na]⁺.

IR: ν = 3456, 3001, 2947, 2106, 1737, 1582, 1443, 1373, 1227, 1111, 988, 934, 772 cm⁻¹.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D = -16.3$ (CHCl₃, c = 1.04, T = 23 °C).

L-H-Cys(Tr)-OH**90**

Eine Lösung von *L*-Cystein-Hydrochlorid (20.0 g, 126 mmol) und TrCl (54.0 g, 194 mmol) in DMF (80 mL) wurde bei RT für 48 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde zu wässriger NaOAc-Lösung (10%, 700 mL) gegeben, der erhaltene Feststoff abfiltriert, mit H₂O gewaschen und für 30 min bei 50 °C in Aceton gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurde der Niederschlag gefiltert, mit Et₂O gewaschen und getrocknet, um die geschützte Aminosäure **90** als farblosen Feststoff zu erhalten (138.4 g, 80%).

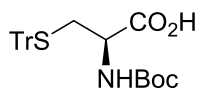
Die analytischen Daten stimmten mit den publizierten Daten überein.^[151]

DC: $R_f = 0.55$ (CHCl₃/MeOH/NH₄OH = 16:8:3).

¹H-NMR: 300 MHz, DMSO-d₆; $\delta = 7.19\text{--}7.40$ (m, 15 H, Tr), 2.87–2.96 (m, 1 H, α -H), 2.52–2.60 (m, 1 H, β -H_{2A}), 2.32 (d, $J = 12.2, 9.3$ Hz, 1 H, β -H_{2B}) ppm.

¹³C-NMR: 63 MHz, CDCl₃; $\delta = 168.2$ (COOH), 144.2 (Tr), 129.2 (Tr), 128.1 (Tr), 126.8 (Tr), 66.1 (C(Ph)₃), 53.2 (C _{α}), 33.3 (C _{β}) ppm.

IR: $\nu = 3055, 1578, 1489, 1441, 1394, 1300, 742, 698$ cm⁻¹.

L-N-Boc-Cys(Tr)-OH**91**

Zu einer Lösung von Amin **90** (15.0 g, 42.0 mmol) in wasserfreiem NEt₃ (120 mL, 10 Vol.-% in Methanol) wurde Boc₂O (18.0 g, 85.5 mmol) gegeben und für 90 min bei 70 °C gerührt. Die Lösung wurde i.V. entfernt, der Rückstand mit wässriger HCl-Lösung (1 M, 120 mL) aufgenommen und bei einem pH von 2 gerührt. Nach 10 min wurde die wässrige Phase mit EtOAc (4x 400 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte mit MgSO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt, um das Boc-geschützte Cystein **91** als farblosen Feststoff zu erhalten (19.1 g, 98%).

Die analytischen Daten stimmten mit den publizierten Daten überein.^[152]

DC: $R_f = 0.15$ (Petrolether/Aceton/HCOOH = 80:20:1).

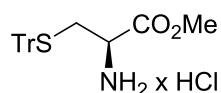
$^1\text{H-NMR}$: 250 MHz, CDCl_3 ; δ = 9.57 (br. s, 1 H, COOH), 7.07-7.40 (m, 16 H, Tr), 4.97 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, NH), 4.22 (d, J = 6.7 Hz, 1 H, α -H), 2.66 (d, J = 4.8 Hz, 2 H, β -H₂), 1.33-1.49 (s, 9 H, OtBu) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 75 MHz, CDCl_3 ; δ = 175.4 (COOH), 155.4 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Boc}}$), 144.2 (Tr), 129.5 (Tr), 128.0 (Tr), 126.9 (Tr), 80.4 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 67.0 ($\underline{\text{C}}(\text{Ph})_3$), 52.4 (C_α), 33.6 (C_β), 28.2 ($\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$) ppm

MS (ESI+): m/z : 486.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

IR: ν = 2978, 1713, 1489, 1242, 1157, 1034, 741, 702 cm^{-1} .

***L*-H-Cys(Tr)-OMe-Hydrochlorid**



199

Bei 0 °C wurde eine Lösung von *L*-H-Cys(Tr)-OH (**90**) (35.0 g, 96.6 mmol) in MeOH (1.50 L) langsam mit SOCl_2 (56.2 mL, 775 mmol) versetzt und anschließend für 14 h bei RT, dann für 8 h bei 70 °C gerührt. Nach Entfernen der flüchtigen Komponenten und fünfmaligem Aufnehmen in THF (je 250 mL) und anschließendem Entfernen des Lösungsmittels konnte Methylester **199** als farbloser Feststoff erhalten werden (38.2 g, 96%).

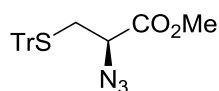
Die analytischen Daten entsprachen den publizierten Daten.^[151]

DC: R_f = 0.62 (CHCl_3 /*i*PrOH/Pyridin = 96:3:1).

$^1\text{H-NMR}$: 250 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.65 (br. s, 3 H, NH₃), 7.10-7.43 (m, 15 H, Tr), 3.60 (s, 3 H, OMe), 3.25-3.40 (m, 1 H, α -H), 2.84-3.02 (m, 2 H, β -H₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 75 MHz, CDCl_3 ; δ = 167.7 ($\underline{\text{C}}\text{OOMe}$), 143.8 (Tr), 129.5 (Tr), 128.2 (Tr), 127.9 (Tr), 127.2 (Tr), 127.0 (Tr), 67.5 ($\underline{\text{C}}(\text{Ph})_3$), 53.3 (C_α), 52.2 (OMe), 31.7 (C_β) ppm.

IR: ν = 3017, 2947, 1735, 1443, 1366, 1227, 741, 702 cm^{-1} .

(2S)-2-Azido-3-thiotrityl-propansäuremethylester**92**

Unter N₂-Atmosphäre wurde *L*-H-Cys(Tr)-OMe-Hydrochlorid (**199**) (13.2 g, 32.0 mmol) und ZnSO₄ (258 mg, 1.60 mmol) in MeOH und H₂O (253 mL, 5:1) gelöst und bei 0 °C tropfenweise mit NEt₃ (13.2 mL, 96.0 mmol) und einer nach AV6 hergestellten Lösung aus TfN₃ in CH₂Cl₂ versetzt. Die homogene Lösung wurde für 2 h bei RT gerührt, mit Phosphatpuffer (pH 3, 160 mL) versetzt und die wässrige Phase mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 2 eingestellt. Die erhaltenen Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x 220 mL) extrahiert, mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Kieselgelfiltration (Petrolether/EtOAc = 4:1) wurde Azid **92** als farbloses Öl (30.4 g, 95%).

Die analytischen Daten stimmten mit den publizierten Daten überein.^[150]

DC: $R_f = 0.44$ (Petrolether/EtOAc = 9:1).

¹H-NMR. 300 MHz, CDCl₃; δ = 7.54-7.47 (m, 6 H, Tr), 7.40-7.27 (m, 9 H, Tr), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.28 (dd, J = 8.1, 5.9 Hz, 1 H, 2-H), 2.77 (dd, J = 13.4, 5.9 Hz, 1 H, 3-H_{2A}), 2.63 (dd, J = 13.4, 8.1 Hz, 1 H, 3-H_{2B}) ppm.

¹³C-NMR: 75 MHz, CDCl₃; δ = 169.2 (COOMe), 144.2 (Tr), 129.5 (Tr), 128.1 (Tr), 128.0 (Tr), 126.9 (Tr), 67.3 (C(Ph)₃), 61.3 (C-2), 52.7 (OMe), 33.1 (C-3) ppm.

HPLC: Methode B; t_R = 11.95 min.

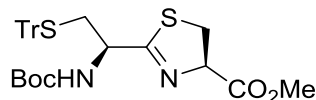
HRMS: Ber. für C₂₃H₂₁N₃O₂SNa: 426.1252; gef.: 426.1246.

MS (ESI+): m/z : 426.1 [M+Na]⁺, 829.3 [2M+Na]⁺.

IR: ν = 2106, 1744, 1489, 1443, 1204, 1157, 1003, 748, 703 cm⁻¹.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -21.5$ (CHCl₃, c = 1.01, T = 23 °C).

(4R,1'S)-2-(1'-N-Boc-2'-tritylthio-ethyl)-4,5-dihydrothiazol-4-carbonsäuremethylester



200

TFA (0.25 mL) und Et_3SiH (0.25 mL) wurden tropfenweise zu einer Lösung aus $\text{N}_3\text{-Cys(Tr)-OMe}$ **92** (403 mg, 1.00 mmol) in entgastem CH_2Cl_2 (5 mL) gegeben und die Reaktionsmischung für 1 h bei RT gerührt. Toluol (2 mL) wurde zugegeben und die flüchtigen Komponenten i.V. entfernt. Das freie Thiol wurde als teilweise kristallines farbloses Öl erhalten, das ohne weitere Isolierung in der nächsten Stufe verwendet wurde.

DC: $R_f = 0.27$ (Petrolether/EtOAc = 4:1).

L-BocHN-Cys(Tr)-OH (**91**) (0.53 g, 1.15 mmol) und HOBt (0.15 g, 1.10 mmol) wurden in CH_2Cl_2 (3.6 mL) gelöst und bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ mit einer Lösung aus EDC \times HCl (0.23 g, 1.20 mmol) in CH_2Cl_2 /DMF (3.8 mL, 2:1) versetzt. Nach 15 min bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ wurden Lösungen des oben hergestellten Thiols (1 mmol) in CH_2Cl_2 (4.8 mL) sowie nacheinander von EtNiPr_2 (140 μL , 0.86 mmol) in CH_2Cl_2 (0.51 mL) und 5 min später von PPh_3 (0.35 g, 1.35 mmol) in CH_2Cl_2 (1.52 mL) zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 15 h bei RT gerührt, auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt, tropfenweise mit H_2O (10 mL) versetzt und die entstandenen Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3 \times 5 mL) extrahiert, die erhaltenen organischen Extrakte vereinigt, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (100 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 4:1) wurde Thiazolin **200** als farbloser Feststoff erhalten und wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe verwendet.

DC: $R_f = 0.17$ (Petrolether/EtOAc = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$: 250 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 7.43\text{--}7.54$ (m, 6 H, Tr), $7.27\text{--}7.41$ (m, 9 H, Tr), $4.93\text{--}5.29$ (m, 2 H, NH, $1'\text{-H}$), $4.44\text{--}4.62$ (m 1 H, 4-H), 3.84 (d, $J = 1.4$ Hz, 3 H, OMe), $3.47\text{--}3.67$ (m, 2 H, $2'\text{-H}_2$), $2.63\text{--}2.89$ (m, 2 H, 5- H_2), 1.49 (s, 9 H, O-*t*Bu) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 63 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 176.0$ (C=O(OMe)), 170.8 (C-2), 154.5 (C=O_{Boc}), 144.4 (Tr), 129.5 (Tr), 128.0 (Tr), 126.8 (Tr), 79.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 78.1 (C-1'), 67.0 ($\text{C}(\text{Ph})_3$), 52.6 (OMe), 52.2 (C-4), 35.7 (C-3), 35.2 (C-2'), 28.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

HPLC: Methode B; $t_R = 11.87$ min.

HRMS: Ber. für C₃₁H₃₅N₂O₄S₂: 563.2033; gef.: 563.2034.

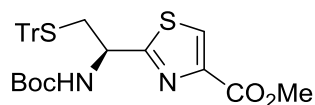
MS (ESI+): *m/z*: 563.2 [M+H]⁺.

IR: ν = 2924, 1713, 1612, 1489, 1443, 1242, 1165, 1018, 741, 700 cm⁻¹.

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D = -14.5$ (CHCl₃, *c* = 1.02, *T* = 23 °C).

Smp.: 70 °C.

(1'S)-2-(1'-N-Boc-2'-tritylthio-ethyl)-thiazol-4-carbonsäuremethylester



93

Eine Lösung von Thiazolin **200** (1.00 mmol) in CH₂Cl₂ (6.7 mL) wurde bei –30 °C tropfenweise mit einer Lösung von DBU (0.29 mL, 2.00 mmol) in CH₂Cl₂ (1.0 mL) versetzt. Nach 5 min wurde eine Lösung von BrCCl₃ (200 µL, 2.00 mmol) in CH₂Cl₂ (0.6 mL) zutropft und die Reaktionslösung über 1.5 h auf RT erwärmt. Phosphatpuffer (pH 3, 15 mL) wurde zugegeben und die wässrige Phase mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 4 eingestellt. Die entstandenen Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (4x 15 mL) extrahiert. Nach Entwässern der vereinigten organischen Extrakte mit Na₂SO₄, Entfernen des Lösungsmittels i.V. und Säulenchromatographie (25 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 9:1, dann 4:1) wurde Thiazol **93** als farbloser Schaum erhalten (488 mg, 87% über 3 Stufen).

DC: *R_f* = 0.55 (Petrolether/EtOAc = 2:1).

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃; δ = 8.12 (s, 1 H, 5-H), 7.44 (d, *J* = 7.6 Hz, 6 H, Tr), 7.27-7.36 (m, 9 H, Tr), 5.05-5.25 (m, 1 H, 1'-H), 4.97 (br. s, 1 H, NH_{Boc}), 4.00 (s, 3 H, OMe), 2.95-3.15 (m, 1 H, 2'-H_{2A}), 2.82 (dd, *J* = 12.5, 4.9 Hz, 1 H, 2'-H_{2B}), 1.47 (s, 9 H, O-*t*Bu) ppm.

¹³C-NMR: 75 MHz, CDCl₃; δ = 173.1 (C-2), 161.7 (C=O_{OMe}), 154.7 (C=O_{Boc}), 147.0 (C-4), 144.3 (Tr), 129.5 (Tr), 128.1 (Tr), 127.6 (C-3), 126.9 (Tr), 80.3 (C(CH₃)₃), 67.4 (C(Ph)₃), 52.4 (OMe), 52.4 (C-1'), 36.7 (C-2'), 28.2 (C(CH₃)₃) ppm.

HPLC: Methode B; *t_R* = 11.95 min.

HRMS: Ber. für C₃₁H₃₃N₂O₄S₂: 561.1876; gef.: 561.1884.

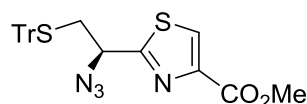
MS (ESI+): m/z : 1143.4 $[2M+Na]^+$, 1121.4 $[2M+H]^+$, 583.2 $[M+Na]^+$, 561.2 $[M+H]^+$, 243.1 $[Tr]^+$.

IR: ν = 3009, 2947, 2349, 1735, 1443, 1366, 1211 cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -17.9$ (CHCl_3 , $c = 1.17$, $T = 23\text{ }^\circ\text{C}$).

Smp.: 88 $^\circ\text{C}$.

(1'-S)-2-(1'-Azido-2'-tritylthio-ethyl)-thiazol-4-carbonsäuremethylester



94

Boc-geschütztes Thiazol **93** (15.6 g, 24.2 mmol) wurde in einer HCl-Lösung (80 mL, 4 M in 1,4-Dioxan) gelöst und 20 h bei RT gerührt. Wasserfreies N_2 -Gas wurde für 20 min durch die Lösung geleitet und das Lösungsmittel anschließend i.V. entfernt. Der Rückstand wurde mit Petrolether/ Et_2O (2x 150 mL, 4:1) gewaschen, um das Hydrochlorid des Amins zu erhalten, das ohne weitere Isolierung in der nächsten Stufe verwendet wurde.

DC: $R_f = 0.01$ (Petrolether/ $\text{EtOAc} = 4:1$).

Unter N_2 -Atmosphäre wurde das oben generierte Hydrochlorid (24.2 mmol) und ZnSO_4 (194 mg, 1.20 mmol) in MeOH und H_2O (203 mL, 5:1) gelöst und bei 0 $^\circ\text{C}$ tropfenweise mit NEt_3 (9.72 mL, 72.0 mmol) und einer nach AV6 hergestellten Lösung aus TfN_3 in CH_2Cl_2 versetzt. Die homogene Lösung wurde für 2.5 h bei RT gerührt, anschließend mit Phosphatpuffer (pH 3, 100 mL) versetzt und die wässrige Phase mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 2 eingestellt. Die erhaltenen Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x 120 mL) extrahiert. Anschließend wurden die vereinigten organischen Extrakte mit gesättigter NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (200 g Kieselgel, Petrolether/ $\text{EtOAc} = 4:1$) wurde Azid **94** als schwach gelbes Harz isoliert (10.3 g, 88% über 2 Stufen).

DC: $R_f = 0.24$ (Petrolether/ $\text{EtOAc} = 9:1$).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.16 (s, 1 H, 5-H), 7.23-7.53 (m, 15 H, Tr), 4.33 (dd, $J = 7.1, 6.0$ Hz, 1 H, 1'-H), 3.98 (s, 3 H, OMe), 2.98 (dd, $J = 13.2, 5.8$ Hz, 1 H, 2'- H_{2A}), 2.86 (dd, $J = 13.3, 7.4$ Hz, 1 H, 2'- H_{2B}) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, CDCl_3 ; δ = 168.6 (C-2), 161.4 ($\underline{\text{COOMe}}$), 146.9 (C-4), 144.1 (Tr), 129.4 (Tr), 128.0 (Tr), 126.9 (C-5), 126.8 (Tr), 67.3 ($\underline{\text{C}}(\text{Ph})_3$), 61.5 (C-1'), 52.4 (OMe), 36.9 (C-2') ppm.

HPLC: Methode B; t_R = 12.08 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{NaO}_2\text{S}_2$: 509.1082; gef.: 509.1075.

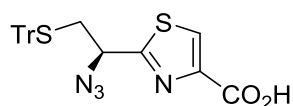
MS (ESI+): m/z : 995.2 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 509.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 243.1 $[\text{Tr}]^+$.

IR: ν = 3387, 3279, 2533, 2137, 1481, 1443, 1180, 1150, 949, 750, 704 cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -6.9$ (CHCl_3 , c = 0.5, T = 24 °C).

Smp: 129-130 °C.

(1'S)-2-(1'-Azido-2'-tritylthio-ethyl)-thiazol-4-carbonsäure



95

Unter Ar-Atmosphäre und bei 0 °C wurde Methylester **94** (8.14 g, 16.7 mmol) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{TFE}$ (302 mL, 2:1:1) gelöst, tropfenweise mit wässriger NaOH-Lösung (17 mL, 5 M) versetzt und gerührt. Nach 3 d bei RT wurde EtOAc (50 mL) zugegeben, die Reaktionsmischung auf 0 °C gekühlt und mit Phosphatpuffer (pH 3, 75 mL) versetzt. Die wässrige Phase wurde mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 2 eingestellt und mit EtOAc (3x 125 mL) extrahiert. Nach Entwässern der vereinigten organischen Phasen mit Na_2SO_4 und Entfernen der Lösungsmittel i.V. wurde Carbonsäure **95** als schwach gelbes Öl erhalten (7.82 g, 99%).

DC: R_f = 0.32 ($\text{CHCl}_3/i\text{PrOH}/\text{HCOOH}$ = 96:3:1).

^1H -NMR: 300 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.02 (s, 1 H, 5-H), 7.14-7.45 (m, 15 H, Tr), 4.15 (t, J = 6.4 Hz, 1 H, 1'-H), 2.84 (dd, J = 13.3, 6.4 Hz, 1 H, 2'- H_{2A}), 2.72 (dd, J = 13.3, 6.4 Hz, 1 H, 2'- H_{2B}) ppm.

^{13}C -NMR: 75 MHz, CDCl_3 ; δ = 168.2 (COOH), 165.1 (C-2), 148.5 (C-4), 144.2 (Tr), 129.5 (Tr), 129.0 (C-5), 128.1 (Tr), 126.9 (Tr), 67.4 ($\underline{\text{C}}(\text{Ph})_3$), 61.7 (C-1'), 37.0 (C-2') ppm.

HPLC: Methode B; $t_R = 10.92$ min.

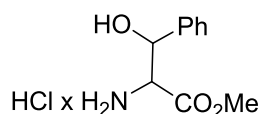
HRMS: Ber. für $C_{25}H_{20}N_4NaO_2S_2$: 495.0925, gef.: 495.0917.

MS (ESI+): m/z : 967.2 $[2M+Na]^+$, 495.1 $[M+Na]^+$, 496.1 $[M+Na]^+$, 243.1 $[Trt]^+$.

IR: $\nu = 3456, 3017, 2947, 2099, 1737, 1574, 1443, 1366, 1211, 741, 712$ cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -3.9$ ($CHCl_3$, $c = 1.04$, $T = 23$ °C).

***DL*-3-Phenylserinmethylester-Hydrochlorid**



96 (Gemisch)

Bei 0 °C wurde eine Suspension aus *DL*-3-Phenylserin-Hydrochlorid (26.2 g, 133 mmol) in MeOH (350 mL) tropfenweise mit $SOCl_2$ (20.3 mL, 560 mmol) versetzt. Nach 42 h bei RT wurde die Lösung mit Toluol (50 mL) verdünnt und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Methylester **96** wurde als farbloser Feststoff erhalten (28.5 g, 92%).

DC: $R_f = 0.48$ ($CHCl_3/MeOH = 9:1$).

1H -NMR: 250 MHz, MeOD- d_4 ; $\delta = 7.32$ -7.58 (m, 5 H, Ph), 5.27 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H, α -H), 4.27 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H, β -H), 3.81 (s, 3 H, OMe) ppm.

^{13}C -NMR: 63 MHz, MeOD- d_4 ; $\delta = 169.3$ (\underline{COOMe}), 140.5 (Ph), 130.0 (Ph), 129.8 (Ph), 127.2 (Ph), 72.3 (C_α), 60.7 (C_β), 53.8 (OMe) ppm.

HPLC: Methode B; $t_R = 1.24$ min.

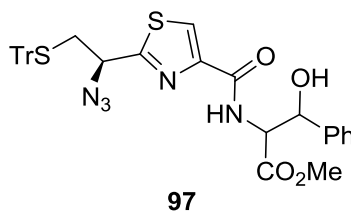
HRMS: Ber. für $C_{10}H_{13}NO_3$: 196.0968, gef.: 196.0970.

MS (ESI+): m/z : 196.1 $[M+H]^+$.

IR: $\nu = 3326, 2948, 1743, 1455, 1065, 1047, 766, 701, 534$ cm^{-1} .

Smp.: 160-161 °C.

(1''S)-1-(2'-(1''-Azido-2''-tritylthio-ethyl)-thiazol-4'-yl-amino)-3-phenylserinmethylester



Unter Ar-Atmosphäre wurden bei 0 °C Lösungen von HBTU (3.41 g, 9.00 mmol) und EtNiPr₂ (2.61 mL, 15.0 mmol) in DMF (12.5 mL) und von *DL*-3-Phenylserinmethylester-Hydrochlorid (**96**) (2.09 g, 9.00 mmol) in DMF (12.5 mL) tropfenweise zu einer Lösung von Carbonsäure **95** (3.54 g, 7.50 mmol) in CH₂Cl₂ (25 mL) gegeben. Nach 3.5 h Rühren bei RT wurde die Mischung auf 0 °C abgekühlt, mit Phosphatpuffer (pH 3, 100 mL) versetzt und die wässrige Phase mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 3 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc/Et₂O (3x 100 mL, 1:1) extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte mit Na₂SO₄ entwässert und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (300 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 3:1) wurde Amid **97** als farbloser Schaum erhalten (4.14 g, 85%).

DC: $R_f = 0.37$ (Petrolether/Aceton = 2:1).

¹H-NMR: 300 MHz, CDCl₃; δ = 8.00 (s, 1 H, 5'-H), 7.96-7.98 (m, 1 H, NH_{Amid}), 7.49 (d, J = 7.5 Hz, 6 H, Ph/Tr), 7.13-7.44 (m, 14 H, Ph/Tr), 5.35-5.43 (m, 1 H, 3-H), 4.89-5.01 (m, 1 H, 2-H), 3.64-3.84 (m, 4 H, OMe, 1''-H), 2.75-3.01 (m, 3 H, 2''-H₂, OH) ppm.

¹³C-NMR: 63 MHz, CDCl₃; δ = 170.6 (COOMe), 167.8 (CONH), 160.7 (C-2'), 149.2 (C-4'), 144.2 (Tr), 139.7 (Ph), 129.6 (Ph/Tr), 128.5 (Ph/Tr), 128.4 (Ph/Tr), 128.2 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 127.0 (Ph/Tr), 125.9 (Ph/Tr), 125.8 (Ph/Tr), 124.5 (Ph/Tr), 124.4 (C-5'), 73.7 (C-3), 67.7 (Tr), 61.6 (C-1''), 58.3 (C-2), 52.7 (OMe), 37.0 (C-2'') ppm.

HPLC: Methode B; t_R = 11.01 min.

HRMS: Ber. für C₃₅H₃₁N₅O₄S₂Na: 672.1710, gef.: 672.1707.

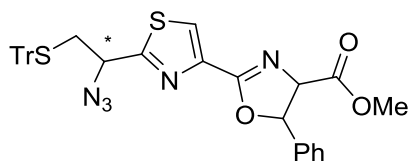
MS (ESI+): m/z : 1316.1 [2M+NH₄]⁺, 1299.5 [2M+H]⁺, 667.5 [M+NH₄]⁺, 243.5 [Tr]⁺.

IR: ν = 3402, 2106, 1736, 1659, 1535, 1489, 1443, 1260, 750, 700 cm⁻¹.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -1.4$ (CHCl₃, c = 0.5, T = 24 °C).

Smp.: 80 °C.

2-(2'-(1''-Azido-2''-tritylthio-ethyl)-thiazol-4'-yl)-5-phenyl-4,5-dihydrooxazol-4-carbonsäuremethylester

**98**

Das Amid **97** (1.85 g, 2.85 mmol) wurde in THF (28 mL) gelöst und bei $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ tropfenweise mit Dexo-Fluor-Lösung (1.50 mL, 50% in THF) versetzt. Nach 3 h bei $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde Pyridin (0.45 mL, 5.69 mmol) zugetropft und eine weitere Stunde gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf RT erwärmt, Toluol (3 mL) zugegeben und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Die Zugabe des Toluols (je 3 mL) sowie das anschließende Entfernen i.V. wurden zweimal wiederholt. Der Rückstand wurde mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (40 mL) und CH_2Cl_2 (40 mL) versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (2x 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit gesättigter NaCl -Lösung (80 mL) gewaschen, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel anschließend i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (150 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 3:1) wurde Oxazolin **98** als schwach gelber Schaum erhalten (1.05 g, 58%).

DC: $R_f = 0.44$ (Petrolether/Aceton = 2:1).

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.03$ (s, 1 H, 5'-H), 7.16-7.56 (m, 20 H, Ph/Tr), 5.92 (d, $J = 7.7$ Hz, 1 H, 4-H), 4.86 (d, $J = 7.7$ Hz, 1 H, 5-H), 4.26-4.40 (m, 1 H, 1''-H), 3.79-3.90 (m, 3 H, OMe), 2.71-3.01 (m, 2 H, 2''-H₂) ppm. Die Präsenz weiterer Isomere konnte anhand des ^1H -NMR-Spektrums nicht ausgeschlossen werden.

^{13}C -NMR: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 170.9$ (COOMe), 169.2 (C-2'), 160.3 (C-4'), 144.2 (Tr), 143.5 (C-2), 138.9 (Ph), 129.5 (Ph/Tr), 128.9 (Ph/Tr), 128.8 (Ph/Tr), 128.5 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 126.9 (Tr/Ph), 125.8 (C-5'), 83.7 (C-5), 76.7 (C-4), 67.3 (C(Ph)₃), 61.6 (C-1''), 52.8 (OMe), 36.9 (C-2'') ppm.

HPLC: Methode G; $t_R = 13.48$ min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{35}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}_2$: 632.1785, gef.: 632.1781.

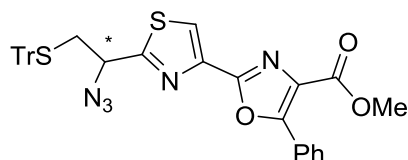
MS (ESI+): m/z : 1263.3 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 632.4 (45) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 243.5 $[\text{Tr}]^+$.

IR: $\nu = 3058, 2951, 2361, 2106, 1739, 1654, 1488, 1444, 1200, 1083, 728, 696, 676 \text{ cm}^{-1}$.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -0.5$ (CHCl_3 , $c = 1$, $T = 24 \text{ }^\circ\text{C}$).

Smp.: $75 \text{ }^\circ\text{C}$.

2-(2'-(1''-Azido-2''-tritylthio-ethyl)-thiazol-4'-yl)-5-phenyloxazol-4-carbonsäuremethylester



100

Unter Ar-Atmosphäre wurde Oxazolin **98** (1.05 g, 1.66 mmol) in CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst und eine Lösung von DBU (250 μL , 1.66 mmol) in CH_2Cl_2 (3.5 mL) bei $-50 \text{ }^\circ\text{C}$ über 3 min zugetropft und gerührt. 20 min später wurde eine Lösung von BrCCl_3 (150 μL , 1.46 mmol) in CH_2Cl_2 (3.5 mL) über 4 min zugegeben, über 4 h auf $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt und anschließend bei $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert. Nach 24 h bei $-25 \text{ }^\circ\text{C}$ wurde die Reaktionsmischung mit Aceton (5 mL) versetzt und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (150 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 5:1) wurde Oxazol **100** als schwach gelber Schaum erhalten (572 mg, 62%). Als Nebenprodukt wurde das Vinylazid **101** isoliert (5%, ein Isomer, die Konfiguration wurde nicht bestimmt).

DC: $R_f = 0.52$ (Petrolether/Aceton = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.16\text{--}8.25$ (m, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.13 (s, 1 H, 5'-H), 7.42-7.42 (m, 18 H, Ph/Tr), 4.22 (dd, $J = 7.3, 5.9 \text{ Hz}$, 1 H, 1''-H), 4.00 (s, 3 H, OMe), 3.02 (dd, $J = 13.5, 5.6 \text{ Hz}$, 1 H, 2''- H_{2A}), 2.89 (dd, $J = 13.5, 7.9 \text{ Hz}$, 1 H, 2''- H_{2B}) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 169.2$ ($\underline{\text{COOMe}}$, C-2'), 162.4 (C-2), 155.4 (C-5), 155.0 (C-4), 144.2 (Tr), 142.9 (C-4'), 130.5 (Ph), 129.8 (Ph/Tr), 129.5 (Ph/Tr), 128.6 (Ph/Tr), 128.4 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 127.7 (Ph/Tr), 126.9 (Ph/Tr), 126.6 (Ph/Tr), 121.9 (C-5'), 67.4 ($\underline{\text{C(Ph)}}_3$), 61.6 (C-1''), 52.4 (OMe), 37.0 (C-2'') ppm.

HPLC: Methode D; $t_R = 17.33 \text{ min}$.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{35}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}_2$: 630.1628, gef.: 630.1628.

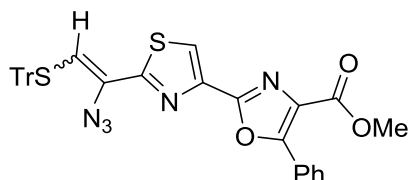
MS (ESI+): m/z : 1276.1 $[\text{2M}+\text{NH}_4]^+$, 1260.3 $[\text{2M}+\text{H}]^+$, 652.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 243.5 $[\text{Tr}]^+$.

IR: $\nu = 2099, 2021, 1975, 1721, 1489, 1443, 1088, 741, 694 \text{ cm}^{-1}$.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -0.5$ (CHCl_3 , $c = 1$, $T = 24 \text{ }^\circ\text{C}$).

Smp.: $82\text{--}84 \text{ }^\circ\text{C}$.

2-(2'-(1''-Azido-2''-tritylthio-ethen-1''-yl)-thiazol-4-yl)-5-phenyloxazol-4-carbonsäuremethylester



101

DC: $R_f = 0.48$ (Petrolether/Aceton = 2:1).

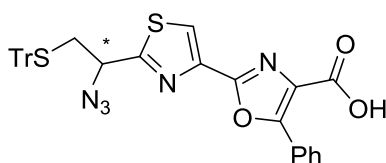
$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.01\text{--}8.17$ (m, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 7.92 (s, 1 H, 5'-H), 7.08-7.48 (m, 18 H, Ph/Tr), 5.98 (s, 1 H, 2''-H), 3.90 (s, 3 H, OMe) ppm.

HPLC: Methode D; $t_R = 18.26 \text{ min}$.

MS (ESI+): m/z : 628.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 2415, 2160, 2014, 1721, 1567, 1489, 1443, 1358, 1096, 694 \text{ cm}^{-1}$.

2-(2'-(1''-Azido-2''-tritylthio-ethyl)-thiazol-4'-yl)-5-phenyloxazol-4-carbonsäure



85

Unter Ar-Atmosphäre wurde Methylester **100** (529 mg, 0.84 mmol) in 1,2-Dichlorethan (15 mL) gelöst, mit Me_3SnOH (304 mg, 1.68 mmol) versetzt und die Reaktionslösung bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ gerührt. Nach 22 h wurde die Lösung auf $0 \text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt, mit EtOAc (40 mL) und Phosphatpuffer (pH 3, 60 mL) versetzt und die wässrige Phase mit wässriger HCl-Lösung (1 M) angesäuert (pH 2). Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit EtOAc (4x 40 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Die Carbonsäure **85** wurde ohne weitere Reinigung für die nächste Umsetzung verwendet.

DC: $R_f = 0.36$ (Petrolether/Aceton = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.17\text{--}8.28$ (m, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.10 (s, 1 H, 5'-H), 7.37-7.53 (m, 6 H, Ph/Tr), 7.13-7.35 (m, 12 H, Ph/Tr), 4.18 (t, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 1''-H), 3.00 (dd, $J = 13.5, 5.8$ Hz, 1 H, 2''- $\text{H}_{2\text{A}}$), 2.86 (dd, $J = 13.4, 7.5$ Hz, 1 H, 2''- $\text{H}_{2\text{B}}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 169.6$ ($\underline{\text{C}}\text{OOMe}$, C-2'), 163.4 (C-2), 155.7 (C-5), 154.4 (C-4), 144.2 (Tr), 142.5 (C-4'), 131.0 (Ph), 129.5 (Ph/Tr), 129.0 (Ph/Tr), 128.61 (Ph/Tr), 128.58 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 128.0 (Ph/Tr), 127.9 (Ph/Tr), 126.9 (Ph/Tr), 126.0 (Ph/Tr), 122.4 (C-5'), 67.5 ($\underline{\text{C}}(\text{Ph})_3$), 61.6 (C-1''), 37.0 (C-2'') ppm.

HPLC: Methode F; $t_R = 14.55$ min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}_2\text{Na}$: 638.1291, gef.: 638.1292.

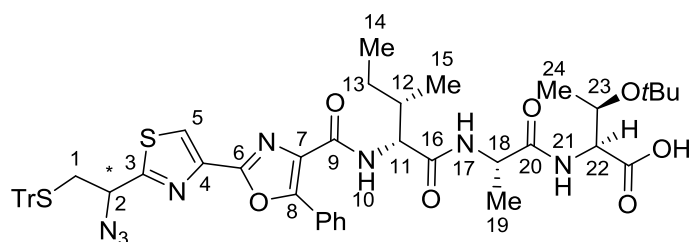
MS (ESI+): m/z : 1231.5 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 633.5 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 243.5 $[\text{Tr}]^+$.

IR: $\nu = 3056, 2105, 1716, 1651, 1532, 1488, 1445, 1317, 1230, 742, 695$ cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +0.3$ (CHCl_3 , $c = 1$, $T = 24$ °C).

Smp.: 78 °C.

***N*-(2-(2'-(1''-Azido-2''-tritylthio-ethyl)-thiazol-4'-yl)-5-phenyloxazol-4-amino)-*D*-allo-Isoleucinyl-Alaninyl-(*O*-*t*Bu)-Threonin-OH**



107

Tritylchlorid-Harz (2.00 g, entspr. 2.80 mmol) wurde analog AV1 mit *L*-FmocHN-Thr(*t*Bu)-OH beladen. Die Beladungsbestimmung nach AV2 ergab einen Wert von 0.75 mmol/g.

Das so erhaltene Harz wurde mit CH_2Cl_2 (3x 8 mL) gequollen und die terminale Fmoc-Gruppe nach AV4 entschützt. Anschließend wurde das beladene Harz nach AV5 mit *L*-FmocHN-Ala-OH über 4 h geschüttelt. Danach wurde dieses erneut mit CH_2Cl_2 (3x 8 mL) gequollen und die terminale Fmoc-Gruppe nach AV4 entschützt. Anschließend wurde das beladene Harz nach AV5 mit *D*-allo-FmocHN-Ile-OH über 5 h geschüttelt.

Das zuvor mit *L*-Thr(*t*Bu), *L*-Ala und *D*-allo-FmocHN-Ile beladene Harz (694 mg, erneute Beladungsbestimmung nach AV2: 0.3 mmol/g; 0.21 mmol) wurde mit CH₂Cl₂ (2x 4 mL) gequollen, die terminale Fmoc-Gruppe nach AV4 abgespalten und das Harz für 5 h mit Carbonsäure **85** (154 mg, 0.25 mmol), HOBT (64.0 mg, 0.42 mmol), HBTU (142 mg, 0.37 mmol) sowie *N*-Methylmorpholin (71.0 µL, 0.65 mmol) in DMF (3.5 mL) geschüttelt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung abfiltriert, das Harz mit CH₂Cl₂ (3x 4 mL) und *t*Butylmethylether (4 mL) gewaschen und die Waschschrte einmal wiederholt. Zur Abspaltung des Peptids vom Harz wurde dieses für 20 h mit TFE/CH₂Cl₂ (6.9 mL, 1:1) geschüttelt und dreimal für 5 min mit CH₂Cl₂ (je 8 mL) extrahiert. Die organischen Extrakte wurden vereint, mit Toluol (10 mL) versetzt und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde mit CH₂Cl₂ (3x 5 mL) versetzt und erneut i.V. eingengt. Durch Kieselgelfiltration (Petrolether/EtOAc = 2:1 + 0.5% HCOOH) wurde Peptid **107** als farbloses Öl erhalten (171 mg, 35% über 8 Stufen).

DC: $R_f = 0.2$ (Petrolether/EtOAc = 2:1 + 1% HCOOH).

¹H-NMR: 300 MHz, CDCl₃; δ = 9.98 (br. s, 1 H, COOH), 8.26 (d, J = 6.6 Hz, 2 H, Phenyl-H_{ortho}), 8.00 (s, 1 H, 5-H), 7.83 (d, J = 7.3 Hz, 1 H, 10-H), 7.35-7.52 (m, 8 H, Ph/Tr), 7.10-7.34 (m, 10 H, Ph/Tr), 6.98-7.10 (m, 1 H, 17-H), 6.92 (m, 1 H, 21-H), 4.49-4.70 (m, 2 H, 11-H, 18-H), 4.37-4.49 (m, 1 H, 22-H), 4.12-4.28 (m, 2 H, 23-H, 2-H), 2.77-3.04 (m, 2 H, 1-H₂), 1.99-2.12 (m, 1 H, 12-H), 1.44-1.62 (m, 1 H, 13-H_{2A}), 1.33-1.44 (m, 3 H, 19-H₃), 1.19-1.29 (m, 1 H, 13-H_{2B}), 1.14 (s, 9 H, O-*t*Bu), 0.96-1.07 (m, 3 H, 15-H₃), 0.92 (t, J = 7.3 Hz, 3 H, 14-H₃), 0.65-0.86 (m, 3 H, 24-H₃) ppm.

¹³C-NMR: 63 MHz, CDCl₃; δ = 172.4 (C=O), 171.2 (C-20), 169.5 (C-3), 169.4 (C-6), 161.5 (C-16), 153.8 (C-4), 153.0 (C-8), 144.2 (Ph/Tr), 142.8 (C-7), 130.2 (Ph/Tr), 129.5 (Ph/Tr), 129.0 (Ph/Tr), 128.5 (Ph/Tr), 128.3 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 127.9 (Ph/Tr), 126.9 (Ph/Tr), 126.9 (Ph/Tr), 126.7 (Ph/Tr), 126.4 (Ph/Tr), 122.0 (C-5), 116.4 (Ph/Tr), 111.6 (Ph/Tr), 76.2 (C(CH₃)₃), 67.5 (C(Ph)₃), 66.3 (C-23), 61.6 (C-2), 57.3 (C-22), 57.1 (C-11), 49.1 (C-18), 37.2 (C-1), 37.1 (C-12), 29.7 (C-13_A), 28.0 (O-C(CH₃)₃), 26.2 (C-13_B), 18.4 (C-15), 18.0 (C-19), 14.7 (C-14), 11.6 (C-24) ppm.

HPLC: Methode I; t_R = 15.77 min.

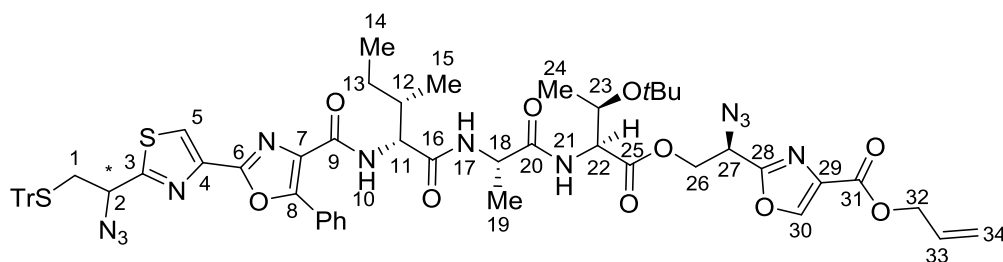
HRMS: Ber. für C₅₁H₅₆N₈O₇S₂Na: 979.3606, gef.: 979.3605.

MS (ESI+): m/z : 1915.1 [2M+H]⁺, 979.9 [M+Na]⁺, 957.9 [M+H]⁺, 901.6 [M-*t*Bu+H]⁺, 243.5 [Tr]⁺.

IR: $\nu = 3657, 3341, 2430, 2100, 1744, 1659, 1504, 1389, 1080 \text{ cm}^{-1}$.

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}} = +20.8$ (CHCl_3 , $c = 1$, $T = 25^\circ\text{C}$).

(2'R)-2-((((2'''-Tritylthio)-(1'''-Azido)-eth-1'''-yl)-2'''-thiazol-4'''-yl-5''-phenyl)-2''-oxazol-4''-amino)-D-allo-Isoleucinyl-Alaninyl-(O-*t*Bu)-Threoninyl-carboxy-(2'-azido)-eth-2'-yl]-oxazol-4-carbonsäureallylester



83

Die Carbonsäure **107** (79.0 mg, 0.08 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (500 μL) gelöst und bei -10°C mit einer Lösung von DCC (24.0 mg, 0.12 mmol) in CH_2Cl_2 (500 μL) versetzt. Nach 16 min wurde eine Lösung von DMAP (2.40 mg, 0.02 mmol) in CH_2Cl_2 (500 μL) und nach weiteren 32 min eine Lösung von Azidoalkohol **84** (18.6 mg, 0.08 mmol) in CH_2Cl_2 (500 μL) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 20 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel bei 30°C i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (20 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 7:3) wurde Depsipeptid **83** als farbloser Feststoff erhalten (51.1 mg, 50%). Im ^1H NMR-Spektrum waren 25 Gew.-% DCU enthalten.

DC: $R_f = 0.35$ (Petrolether/Aceton = 3:2).

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.32$ (d, $J = 6.7$ Hz, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.29 (s, 1 H, 28-H), 8.05 (s, 1 H, 5-H), 7.83 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, 10-H), 7.62-7.75 (m, 1 H, 21-H), 7.19-7.62 (m, 18 H, Ph/Tr), 6.91-7.02 (m, 1 H, 17-H), 5.92-6.11 (m, 1 H, 33-H), 5.25-5.52 (m, 2 H, 34- H_2), 5.00-5.11 (m, 1 H, 22-H), 4.76-4.92 (m, 2 H, 32- H_2), 4.69-4.76 (m, 1 H, 11-H), 4.56-4.69 (m, 2 H, 18-H, 27-H), 4.45-4.56 (m, 1 H, 23-H), 4.05-4.15 (m, 2 H, 26- $\text{H}_{2\text{A}}$, 2-H), 3.88-3.98 (m, 1 H, 26- $\text{H}_{2\text{B}}$), 3.01 (dd, $J = 13.4, 5.8$ Hz, 1 H, 1- $\text{H}_{2\text{A}}$), 2.88 (dd, $J = 13.4, 7.6$ Hz, 1 H, 1- $\text{H}_{2\text{B}}$), 2.13-2.27 (m, 1 H, 12-H), 1.48-1.56 (m, 1 H, 13- $\text{H}_{2\text{A}}$), 1.32-1.47 (m, 6 H, 19- H_3 , 24- H_3), 1.28-1.32 (m, 1 H, 13- $\text{H}_{2\text{B}}$), 0.99-1.22 (m, 12 H, O-*t*Bu, 15- H_3), 0.93-0.99 (m, 3 H, 14- H_3) ppm.

^{13}C -NMR: Über HSQC und HMBC Daten, 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 171.6$ (C-20), 171.0 (C-16), 169.4 (C-28), 169.2 (C-3), 161.3 (C-9), 160.9 (C-25), 160.7 (C-31), 155.5 (C-6), 153.0 (C-8), 152.8 (C-7), 144.9 (C-30), 144.2 (C-4), 142.7 (C-29), 133.4 (Ph/Tr), 132.1

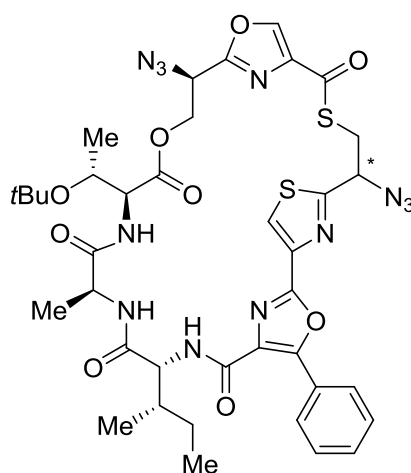
(Ph/Tr), 132.0 (Ph/Tr), 131.4 (C-33), 129.5 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 127.0 (Ph/Tr), 121.6 (C-5), 119.3 (C-34), 74.3 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 67.5 ($\underline{\text{C}}(\text{Ph})_3$), 67.4 (C-26), 66.0 (C-32), 65.8 (C-22), 62.9 (C-2), 58.9 (C-11), 58.0 (C-23), 57.0 (C-27), 48.3 (C-18), 37.1 (C-1), 37.0 (C-12), 29.6 (C-13), 28.2 (C-15), 25.6 ($\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 24.1 (C-24), 17.5 (C-19), 11.6 (C-14) ppm.

HPLC: Methode G; t_R = 15.98 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{60}\text{H}_{65}\text{N}_{12}\text{O}_{10}\text{S}_2$: 1177.4400, gef.: 1177.4383.

MS (ESI+): m/z : 1199.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1194.7 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 1177.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 243.5 $[\text{Tr}]^+$.

„Zyklotriazol 82“



82

Der Allylester **83** (20.8 mg, 17.6 μmol) wurde in entgastem CH_2Cl_2 (800 μL) aufgenommen und mit einer Lösung von $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (4.00 mg, 3.50 μmol) in entgastem CH_2Cl_2 (200 μL) sowie PhSiH_3 (4.30 μL , 35.2 μmol) versetzt, unter Lichtausschluss für 1 h gerührt und anschließend das Lösungsmittel bei 30 °C i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 97:3 + 0.5\% \text{HCOOH}$) wurde Carbonsäure **108** erhalten. Diese wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Umsetzung eingesetzt.

DC: $R_f = 0.07$ ($\text{CHCl}_3/i\text{PrOH} = 9:1 + 0.5\% \text{HCOOH}$).

Unter Ar-Atmosphäre wurde Carbonsäure **108** (etwa 17.6 μmol) in entgastem CH_2Cl_2 (1 mL) gelöst, sowie mit Et_3SiH (50 μL , 5 Vol.-%) und TFA (30 μL , 3 Vol.-%) versetzt. Nach 1 h wurde wasserfreies Toluol (0.5 mL) zugegeben, das Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand mit CH_2Cl_2 (2x 0.5 mL) versetzt und jeweils i.V. eingengt. Die so erhaltene ω -Thiol-Carbonsäure wurde ohne weitere Reinigung für 2 h i.V. getrocknet und für die nächste Umsetzung verwendet.

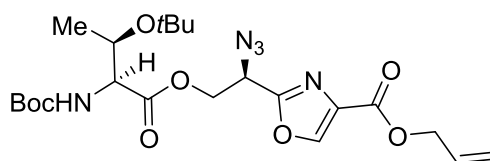
PyBOP (9.00 mg, 16.9 μmol) wurde in CH_2Cl_2 (3.7 mL) gelöst und mit einer Lösung von *N*-Methylmorpholin (2.00 μL , 21.2 μmol) in CH_2Cl_2 (200 μL) versetzt. Über eine Spritzenpumpe wurde eine Lösung aus der oben hergestellten ω -Thiol-Carbonsäure (17.6 μmol) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (2.3 mL, 3:2) über 20 min zugetropft. Nach 3 d wurde die Reaktionslösung bei 30 °C i.V. eingengt und der Makrozyklus **82** nach Säulenchromatographie (6 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 7:3) erhalten (4 mg, 28% über 3 Stufen).

DC: R_f = 0.25 (Petrolether/Aceton = 7:3).

HRMS: Ber. für $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{N}_{12}\text{O}_9\text{S}_2$: 877.2869, gef.: 877.2881.

MS (ESI+): m/z : 1774.5 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 899.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 894.7 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 877.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(1'S,2''S,3''R)-2-(2'-(*N*-Boc-O-*t*Bu-Threoninyl)-oxy-1'-azido)-oxazol-4-carbonsäureallylester



128

Der Azido-Alkohol **84** (50.0 mg, 0.21 mmol) wurde in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (2.5 mL, 4:1) gelöst und bei 0 °C mit einer Lösung von DCC (60.6 mg, 0.29 mmol) in CH_2Cl_2 (0.5 mL) versetzt. Nach 20 min wurden Lösungen von DMAP (6.00 mg, 0.05 mmol) und Imidazol (8.60 mg, 126 μmol) in CH_2Cl_2 (0.5 mL) sowie nach weiteren 20 min *L*-Boc-Thr(*t*Bu)-OH (54.8 mg, 0.20 mmol) in CH_2Cl_2 (1 mL) zugegeben und für 43 h bei RT gerührt. Anschließend wurden die Lösungsmittel bei 30 °C i.V. entfernt. Säulenchromatographie (25 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 4:1) ergab Ester **128** als ein farbloses Öl (39.2 mg, 40%).

DC: R_f = 0.24 (Petrolether/Aceton = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.29 (s, 1 H, 5-H), 5.91-6.09 (m, 1 H, 2'''-H), 5.25-5.46 (m, 3 H, 3'''-H₂, NH_{Thr}), 4.85-4.96 (m, 1 H, 1'-H), 4.83 (d, J = 5.9 Hz, 2 H, 1'''-H₂), 4.34-4.66 (m, 2 H, 2'-H₂), 4.11-4.24 (m, 2 H, Thr- α -H, Thr- β -H), 1.45 (s, 9 H, Boc), 1.16-1.29 (m, 3 H, Thr- γ -H₃), 1.03-1.16 (m, 9 H, O-*t*Bu) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 75 MHz, CDCl_3 ; δ = 171.0 (C=O_{Thr}), 160.2 (C=O_{Allyl}), 159.2 (C-2), 156.1 (C=O_{Boc}), 145.1 (C-5), 133.8 (C-4), 131.4 (C-2'''), 119.3 (C-3'''), 79.9 (C_{Boc}(CH₃)₃), 74.0

(C_{O^tBu}(CH₃)₃), 67.3 (Thr-β-C), 66.0 (C-1'''), 64.2 (C-2'), 59.4 (Thr-α-C), 56.4 (C-1'), 28.3 (C_{Boc}(CH₃)₃), 28.3 (C_{O^tBu}(CH₃)₃), 20.9 (Thr-γ-C) ppm.

HPLC: Methode G; t_R = 10.29 min.

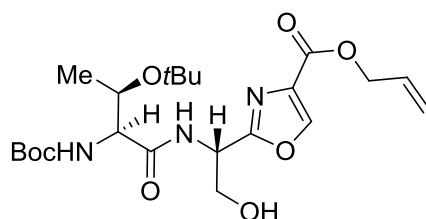
HRMS: Ber. für C₂₂H₃₃N₅O₈Na: 518.2221, gef.: 518.2224.

MS (ESI+): m/z : 1013.3 [2M+H]⁺, 518.7 [M+Na]⁺, 496.7 [M+H]⁺.

IR: ν = 2978, 2940, 2106, 1713, 1497, 1366, 1250, 1157, 1111, 1072, 988, 941, 771, 687 cm⁻¹.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -11.4$ (CHCl₃, c = 1, T = 23 °C).

(1'S,1''S,2''R)-2-(1'-(N-Boc-O^tBu-Threoninyl)-amino-2'-hydroxy-ethyl)oxazol-4-carbonsäureallylester



129

L-Boc-Thr(*t*Bu)-OH (89.0 mg, 0.32 mmol) wurde in CH₂Cl₂ (2 mL) gelöst und bei 0 °C mit einer Lösung von HBTU (148 mg, 0.39 mmol) und Et₃NiPr₂ (90.0 μL, 0.52 mmol) in DMF (1 mL) versetzt. Nach 20 min wurde eine Lösung von Aminoalkohol **125** (80.0 mg, 0.26 mmol) in DMF (2.5 mL) zugegeben und für 22 h bei RT gerührt. Anschließend wurde auf 0 °C abgekühlt und die Reaktionsmischung mit Phosphatpuffer (pH 3, 5 mL) sowie gesättigter NaCl-Lösung (2 mL) versetzt. Die entstanden Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3x 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 1:1) ergab Amid **129** als farbloses Öl (63 mg, 52%).

DC: R_f = 0.11 (Petrolether/EtOAc = 1:1).

¹H-NMR: 300 MHz, CDCl₃; δ = 8.22 (s, 1 H, 5-H), 7.99 (d, J = 7.4 Hz, 1 H, NH_{Amid}), 5.90-6.08 (m, 1 H, 2''-H), 5.60 (d, J = 5.6 Hz, 1 H, NH_{Thr}), 5.20-5.48 (m, 3 H, 1'-H, 3''-H₂), 4.81 (dt, J = 5.9, 1.2 Hz, 2 H, 1''-H₂), 4.21 (dd, J = 11.5, 3.7 Hz, 2 H, Thr-α-H,

Thr- β -H), 4.03-4.17 (m, 1 H, 2'-H_{2A}), 3.88-4.03 (m, 1 H, 2'-H_{2B}), 2.92 (br. s, 1 H, HO), 1.38-1.51 (s, 9 H, Boc), 1.25 (s, 9 H, O-*t*Bu), 1.00-1.09 (m, 3 H, Thr- γ -H₃) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃; δ = 170.5 (C=O_{Thr}), 162.8 (C-2), 160.5 (C=O_{Allyl}), 155.6 (C=O_{Boc}), 144.4 (C-5), 133.2 (C-4), 131.6 (C-2'''), 119.1 (C-3'''), 79.8 (C_{Boc}(CH₃)₃), 75.3 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 66.9 (Thr-C β), 65.8 (C-1'''), 63.3 (C-2'), 58.6 (Thr-C β), 49.3 (C-1'), 28.3 (C_{Boc}(CH₃)₃), 28.2 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 17.4 (Thr-C γ) ppm.

HPLC: Methode G; t_R = 4.41 min.

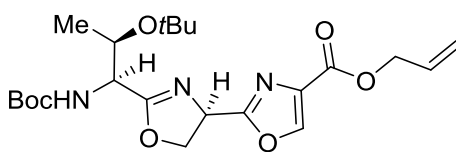
HRMS: Ber. für C₂₂H₃₅N₃O₈Na: 492.2316, gef.: 492.2319.

MS (ESI+): m/z : 961.3 [2M+Na]⁺, 939.7 [2M+H]⁺, 492.7 [M+Na]⁺, 470.7 [M+H]⁺.

IR: ν = 3541, 3418, 2963, 2423, 2029, 1975, 1713, 1674, 1481, 1366, 1166, 988 cm⁻¹.

Optische Drehung [α]_D = -5.3 (CHCl₃, c = 1, T = 23 °C).

(1'S,1''S,2''R)-2'-(2''-O-*t*Bu-1''-N-Boc-propyl)-(4',5'-dihydro)-[2,4'-bioxazol]-4-carbonsäureallylester



130

Zyklisierung mit Aza-Wittig

Azid **128** (19.5 mg, 39.0 μ mol) wurde in 2,6-Lutidin (2.7 mL) aufgenommen und bei -196 °C mit einer Lösung von PPh₃ (15.0 mg, 59.0 μ mol) in 2,6-Lutidin (0.8 mL) überschichtet. Nach Erwärmen auf RT wurde die entstehende Lösung für 21 h bei 90 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf RT abgekühlt, das Lösungsmittel i.V. entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, Petrol-ether/Aceton = 7:3) gereinigt, um Oxazolin **130** als farbloses Öl zu erhalten (15 mg, 85%).

Zyklisierung mit DAST

Amid **129** (50.0 mg, 106 μ mol) wurde in CH₂Cl₂ (1 mL) gelöst, bei -78 °C tropfenweise mit DAST (15.0 μ L, 117 μ mol) versetzt und für 2 h gerührt. Nach Zugabe von K₂CO₃ (29.0 mg, 212 μ mol) bei -65 °C wurde die Reaktionslösung 20 min bei RT gerührt. Anschließend wurde gesättigte NaHCO₃-Lösung (5 mL) zugegeben, die entstehenden Phasen

getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x 5 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Das Oxazolin **130** wurde als farbloses Öl erhalten (43 mg, 90%).

DC: $R_f = 0.41$ (Petrolether/Aceton = 7:3).

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.23$ (s, 1 H, 5-H), 5.91-6.05 (m, 1 H, 2'''-H), 5.23-5.43 (m, 4 H, 3'''-H₂, NH_{Boc} , 4'-H), 4.77-4.84 (m, 2 H, 1'''-H₂), 4.59-4.77 (m, 2 H, 5'-H₂), 4.33 (d, $J = 9.4$ Hz, 1 H, 1''-H), 4.06-4.18 (m, 1 H, 2''-H), 1.44 (s, 9 H, Boc), 1.20 (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H, 3''-H₃), 1.09 (s, 9 H, O-*t*Bu) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 169.8$ ($\text{C}=\text{O}_{\text{Boc}}$), 163.1 (C-2), 160.5 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Allyl}}$), 155.9 (C-4), 144.7 (C-5), 133.2 (C-2'), 131.6 (C-2'''), 119.0 (C-3'''), 79.7 ($\text{C}_{\text{Boc}}(\text{CH}_3)_3$), 73.9 ($\text{C}_{\text{O}t\text{Bu}}(\text{CH}_3)_3$), 70.7 (C-5'), 67.3 (C-2''), 65.7 (C-1'''), 63.5 (C-4'), 54.7 (C-1''), 28.3 ($\text{C}_{\text{O}t\text{Bu}}(\text{CH}_3)_3$), 28.2 ($\text{C}_{\text{Boc}}(\text{CH}_3)_3$), 20.6 (C-3'') ppm.

HPLC: Methode G; $t_R = 8.46$ min.

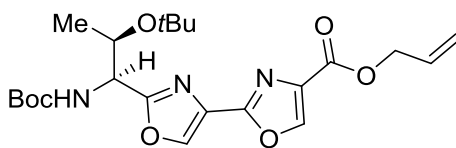
HRMS: Ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_7$: 452.2391; gef.: 452.2393.

MS (ESI+): m/z : 452.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 396.1 $[\text{M}-t\text{Bu}+\text{H}]^+$, 296.2 $[\text{M}-t\text{Bu}-\text{Boc}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 2978, 1713, 1667, 1582, 1497, 1366, 1312, 1165, 1111, 1072, 918, 772$ cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +27.1$ (CHCl_3 , $c = 1$, $T = 23$ °C).

(1''S,2''R)-2'-(2''-O-*t*Bu-1''-N-Boc-propyl)-[2,4'-bioxazol]-4-carbonsäureallylester



131

Oxazolin **130** (36.0 mg, 79.7 μmol) wurde unter Ar-Atmosphäre bei -60 °C in einer Mischung aus MeCN/ CCl_4 /Pyridin (5.3 mL, 3:2:3) gelöst. Bei -60 °C wurde über 45 min dreimal tropfenweise DBU (je 40.0 μL , je 266 μmol) zugegeben und die Lösung anschließend unter Lichtausschluss über 4 h auf RT erwärmt. Nach 3 d stehen unter Lichtausschluss wurde Toluol (2 mL) zugegeben und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der Rückstand wurde mit CH_2Cl_2 (10 mL) und Phosphatpuffer (pH 3, 10 mL) aufgenommen,

die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (2x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit gesättigter NaCl-Lösung (15 mL) gewaschen, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 3:2) wurde Oxazol **131** als farbloser Feststoff erhalten (21.6 mg, 60%).

DC: $R_f = 0.51$ (Petrolether/EtOAc = 3:2).

^1H -NMR: 300 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.30$ (s, 1 H, 5-H), 8.29 (s, 1 H, 5'-H), 5.93-6.09 (m, 1 H, 2'''-H), 5.60 (d, $J = 9.4$ Hz, 1 H, NH_{Boc}), 5.25-5.47 (m, 2 H, 3'''-H₂), 4.86-4.93 (m, 1 H, 1''-H), 4.85 (dd, $J = 5.9, 1.2$ Hz, 2 H, 1'''-H₂), 4.11-4.22 (m, 1 H, 2''-H), 1.47 (s, 9 H, Boc), 1.26 (d, $J = 6.1$ Hz, 3 H, 3''-H₃), 0.95 (s, 9 H, O-tBu) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 165.0$ (C-2), 160.6 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Allyl}}$), 155.8 (C-2'), 155.7 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Boc}}$), 143.7 (C-5), 139.3 (C-5'), 134.3 (C-4), 131.6 (C-2'''), 129.8 (C-4'), 119.2 (C-3'''), 80.1 ($\text{C}_{\text{Boc}}(\text{CH}_3)_3$), 74.4 ($\text{C}_{\text{OtBu}}(\text{CH}_3)_3$), 68.6 (C-2''), 65.9 (C-1'''), 55.0 (C-1''), 28.3 ($\text{C}_{\text{Boc}}(\text{CH}_3)_3$), 28.0 ($\text{C}_{\text{OtBu}}(\text{CH}_3)_3$), 20.3 (C-3'') ppm.

HPLC: Methode I; $t_R = 12.96$ min.

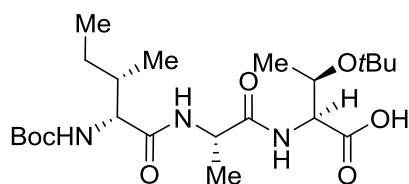
HRMS: Ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$: 472.2054, gef.: 472.2060.

MS (ESI+): m/z : 899.0 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 472.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 466.9 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$.

IR: $\nu = 3657, 3225, 2978, 2438, 1721, 1458, 1072$ cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -42.2$ (CHCl_3 , $c = 0.25$, $T = 25$ °C).

Smp.: 260 °C.

Boc-*D*-allo-Ile-Ala-Thr(*t*Bu)-OH**126**

Tritylchlorid-Harz (18.0 g, entspr. 25.2 mmol) wurde analog AV1 mit *L*-FmocHN-Thr(*t*Bu)-OH (9.45 g, 24.9 mmol) beladen. Die Beladungsbestimmung nach AV2 ergab einen Wert von 0.73 mmol/g.

Das Harz wurde mit CH₂Cl₂ (3x 90 mL) gequollen und die terminale Fmoc-Gruppe analog AV4 entschützt. Anschließend wurde das beladene Harz mit *L*-FmocHN-Ala-OH (17.4 g, 52.6 mmol), HOBt (8.00 g, 52.6 mmol), HBTU (20.0 g, 52.6 mmol) und EtNiPr₂ (18.4 mL, 105 mmol) in DMF (160 mL) über 7 h geschüttelt. Die Reinigung erfolgte nach AV5. Dieses Harzes wurde erneut mit CH₂Cl₂ (3x 90 mL) gequollen und die terminale Fmoc-Gruppe nach AV4 entschützt. Anschließend wurde das Harz nach AV5 mit *D*-allo-BocHN-Ile-OH (4.25 g, 18.4 mmol) über 6 h geschüttelt.

Das Trägerharz wurde abfiltriert, mit CH₂Cl₂ (3x 90 mL) und *t*Butylmethylether (90 mL) gewaschen und die Waschschrte einmal wiederholt. Das Harz wurde für 5, 10 und 15 min mit HFIP (30 Vol.-% in CH₂Cl₂, je 90 mL) geschüttelt, und für jeweils 5 min mit CH₂Cl₂ (3x 100 mL) extrahiert. Alle organischen Extrakte wurden vereint, nach jedem Abspaltungsschritt mit Toluol (je 20 mL) versetzt und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (500 g Kieselgel, CHCl₃/MeOH = 95:5 + 1% HCOOH) wurde das Tripeptid **126** als farbloser Feststoff erhalten (5.7 g, 96% über 6 Stufen).

DC: $R_f = 0.33$ (CHCl₃/MeOH = 95:5 + 1% HCOOH).

¹H-NMR: 300 MHz, CDCl₃; δ = 6.91-6.99 (m, 1 H, NH_{Ile}), 6.74-6.90 (m, 1 H, NH_{Ala}), 5.11-5.23 (br. s, 1 H, NH_{Thr}), 4.6 (quin, $J = 7.0$ Hz, 1 H, Ala- α -H), 4.48 (dd, $J = 7.0$, 3.5 Hz, 1 H, Ile- α -H), 4.23-4.38 (m, 1 H, Ile- β -H), 4.16 (m, 1 H, Thr- α -H), 1.95 (m, 1 H, Thr- β -H), 1.44 (s, 9 H, Boc), 1.40 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H, Ala- β -H₃), 1.29 (s, 9 H, O-*t*Bu), 1.22 (dd, $J = 13.9$, 6.9 Hz, 2 H, Ile- γ -H₂), 1.12 (d, $J = 6.3$ Hz, 3 H, Ile- γ' -H₃), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, Ile- δ -H₃), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, Thr- γ -H₃) ppm.

¹³C-NMR: 75 MHz, CDCl₃; δ = 172.4 (C=O_{Ala}), 171.8 (C=O_{Ile}), 171.7 (C=O_{Boc}), 156.0 (C=O_{Thr}), 79.3 (C_{Boc}(CH₃)₃), 76.3 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 66.3 (Ile-C β), 57.9 (Thr-C α), 57.3

(Ile- C_α), 48.8 (Ala- C_α), 37.5 (Thr- C_β), 28.3 ($C_{\text{Boc}}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 28.1 ($C_{\text{OtBu}}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 26.2 (Ile- C_γ), 18.4 (Ile- C_γ , Ala- C_β), 14.2 (Thr- C_γ), 11.7 (Ile- C_δ) ppm.

HPLC: Methode F; t_R = 10.77 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_7$: 460.3017, gef.: 460.3017.

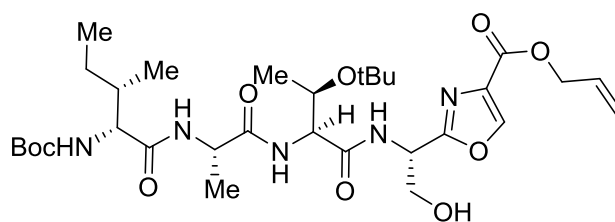
MS (ESI+): m/z : 936.3 $[2\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 919.5 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 460.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3307, 2974, 2633, 1638, 1508, 1366, 1161, 1081, 678 cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -75.6$ (CHCl_3 , c = 1, T = 24 °C).

Smp.: 122-124 °C.

(1'S)-2-(1'-N-Boc-D-*allo*-Isoleucinyl-Alaninyl-(O-*t*Bu)-Threoninyl-amino-2'-hydroxy-ethyl)-oxazol-4-carbonsäureallylester



133

Die Carbonsäure **126** (5.50 g, 12.0 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (50 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde über 4 min eine Lösung aus HBTU (5.46 g, 14.0 mmol), HOBT (2.20 g, 14.0 mmol) und Et_3N (4.20 mL, 0.02 mol) in DMF (25 mL) zugetropft. Nach 20 min wurde über 4 min eine Lösung aus Amin **125** (3.10 g, 0.01 mol) in DMF (25 mL) zugegeben. Bei RT wurde die Reaktionslösung für 23 h gerührt, auf 0 °C abgekühlt, durch Zugabe von Phosphatpuffer (pH 3, 100 mL) und wässriger HCl-Lösung (1 M) ein pH-Wert von 2 eingestellt sowie gesättigte NaCl-Lösung (30 mL) zugegeben. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc/ Et_2O (1:1, 3x 150 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (750 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 1:9, dann 100% EtOAc) wurde Amid **133** (6 g, 92%) als Gemisch der Thr-Epimere (*L*-Thr/*D-*allo**-Thr etwa 2:1) erhalten.

Durch Ausfällen des Gemisches aus EtOAc wurde das *L*-Thr Isomer isoliert. Hierzu wurde das Isomerengemisch (343 mg, 0.52 mmol) mit eiskaltem EtOAc (4x 1 mL) gewaschen und der erhaltene Feststoff filtriert. Nach Trocknen des Niederschlags i.V. wurde

Oxazol **133** als farbloser Feststoff erhalten (194 mg, 57%). Das Filtrat enthielt weiterhin beide Epimere.

DC: $R_f = 0.31$ (Petrolether/Aceton = 3:2).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.21$ (s, 1 H, 5-H), 7.96 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H, NH_{Amid}), 7.58 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H, NH_{Ile}), 6.86 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H, NH_{Ala}), 6.00 (ddt, $J = 16.9, 11.0, 5.6$ Hz, 1 H, 2''-H), 5.39 (dd, $J = 17.1, 1.3$ Hz, 1 H, 1'-H), 5.23-5.34 (m, 2 H, 3''-H₂), 5.07 (d, $J = 6.7$ Hz, 1 H, NH_{Thr}), 4.80 (d, $J = 5.9$ Hz, 2 H, 1''-H₂), 4.68 (t, $J = 7.0$ Hz, 1 H, Ala- α -H), 4.49 (dd, $J = 6.6, 3.7$ Hz, 1 H, Ile- α -H), 4.10-4.26 (m, 3 H, Thr- α -H, 2'-H_{2A}, Ile- β -H), 3.95 (dd, $J = 11.6, 4.5$ Hz, 1 H, 2'-H_{2B}), 1.89-2.00 (m, 1 H, Thr- β -H), 1.43 (s, 9 H, Boc), 1.41 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H, Ala- β -H₃), 1.14-1.30 (m, 11 H, O-*t*Bu, Ile- γ -H₂), 1.01 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, Ile- γ' -H₃), 0.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H, Ile- δ -H₃), 0.85 (d, $J = 7.0$ Hz, 3 H, Thr- γ -H₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 171.8$ (C=O_{Boc}, C=O_{Ile}, C=O_{Ala}), 169.7 (C=O_{Thr}), 162.7 (COOCH₂), 160.5 (C-3), 144.4 (C-5), 133.3 (C-4), 131.6 (C-2''), 119.1 (C-3''), 80.0 (C_{Boc}(CH₃)₃), 75.5 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 66.3 (Ile-C β), 65.8 (C-1''), 63.4 (C-2'), 60.4 (Thr-C α), 57.7 (Ile-C α), 49.7 (C-1'), 49.0 (Ala-C α), 37.6 (Thr-C β), 28.3 (C_{Boc}(CH₃)₃), 28.1 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 26.2 (Ile-C γ), 19.1 (Ala-C β), 17.4 (Ile-C γ'), 14.3 (Thr-C γ), 11.7 (Ile-C δ) ppm.

HPLC: Methode J; $t_R = 9.25$ min.

HRMS: Ber. für C₃₁H₅₁N₅O₁₀Na: 676.3528, gef.: 676.3531.

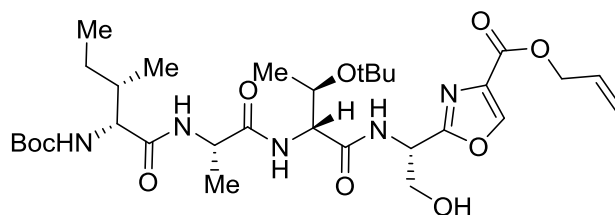
MS (ESI+): m/z : 1307.5 [2M+H]⁺, 654.4 [M+H]⁺.

IR: $\nu = 3056, 1716, 1651, 1532, 1488, 1445, 1317, 1230, 742, 695$ cm⁻¹.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -13.6$ (CHCl₃, c = 0.5, T = 24 °C).

Smp.: 180 °C.

(1'S)-2-(1'-N-Boc-D-allo-Isoleuciny-Alaninyl-(O-*t*Bu)-D-allo-Threoninyl-amino-2'-hydroxy-ethyl)oxazol-4-carbonsäureallylester



133-1

Nach zweimaligem Ausfällen aus EtOAc und Säulenchromatographie (Petrolether/EtOAc = 1:9) waren noch 20% des *L*-Thr-Isomeres enthalten.

Analytische Daten des *D*-allo-Thr-Isomeres:

DC: R_f = 0.31 (Petrolether/Aceton = 3:2).

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃; δ = 8.19 (s, 1 H, 5-H), 7.81 (d, J = 7.0 Hz, 1 H, NH_{Ile}), 7.07-7.13 (m, 1 H, NH_{Amid}), 7.04 (d, J = 7.3 Hz, 1 H, NH_{Ala}), 5.91-6.05 (m, 1 H, 2''-H), 5.26-5.43 (m, 2 H, 3''-H₂), 5.23 (td, J = 7.2, 3.5 Hz, 1 H, 1'-H), 5.14 (d, J = 7.3 Hz, 1 H, NH_{Thr}), 4.76-4.82 (m, 2 H, 1''-H₂), 4.57-4.65 (m, 1 H, Ala- α -H), 4.21-4.33 (m, 2 H, Ile- α -H, Ile- β -H), 4.06-4.21 (m, 2 H, Thr- α -H, 2'-H_{2A}), 3.95 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, 2'-H_{2B}), 2.30 (br. s, 1 H, OH), 1.92 (dt, J = 12.6, 6.6 Hz, 1 H, Thr- β -H), 1.44 (s, 9 H, Boc), 1.27-1.40 (m, 2 H, Ile- γ -H₂), 1.20 (s, 9 H, O-*t*Bu), 1.14-1.18 (m, 3 H, Ile- γ' -H₃), 0.88-0.94 (m, 3 H, Ile- δ -H₃), 0.82-0.88 (m, 3 H, Thr- γ -H₃) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃; δ = 173.9 (C=O_{Ala}), 172.8 (C=O_{Ile}), 172.2 (C=O_{Boc}), 169.9 (C=O_{Thr}), 163.2 (COOCH₂), 160.7 (C-3), 144.3 (C-5), 133.0 (C-4), 131.6 (C-2''), 119.0 (C-3''), 80.5 (C_{Boc}(CH₃)₃), 74.7 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 66.3 (Ile-C β), 65.7 (C-1''), 62.9 (C-2'), 59.0 (Thr-C α), 57.9 (Ile-C α), 50.4 (C-1'), 49.6 (Ala-C α), 36.8 (Thr-C β), 28.23 (C_{Boc}(CH₃)₃), 28.15 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 26.3 (Ile-C γ), 18.2 (Ala-C β), 16.9 (Ile-C γ'), 14.2 (Thr-C γ), 11.6 (Ile-C δ) ppm.

HPLC: Methode J; t_R = 8.73 min.

HRMS: Ber. für C₃₁H₅₁N₅O₁₀Na: 676.3528, gef.: 676.3531.

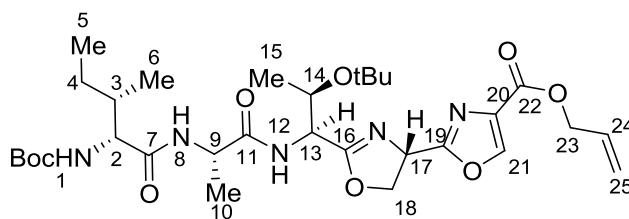
MS (ESI+): m/z : 1307.5 [2M+H]⁺, 654.4 [M+H]⁺.

IR: ν = 3056, 1716, 1651, 1532, 1488, 1445, 1317, 1230, 742, 695 cm⁻¹.

Alternative Darstellung von Oxazol 133 (besseres Epimerenverhältnis)

Unter Ar-Atmosphäre wurde bei $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ eine Lösung aus Carbonsäure **126** (3.30 mg, $7.11\text{ }\mu\text{mol}$) in CH_2Cl_2 (70 μL) vorgelegt und mit einer Lösung von PyAOP (4.00 mg, $7.76\text{ }\mu\text{mol}$) und Et_3N (2.30 μL , $12.9\text{ }\mu\text{mol}$) in DMF (35 μL) versetzt. Nach 15 min wurde eine Lösung von Amin **125** (2.00 mg, $6.47\text{ }\mu\text{mol}$) in DMF (35 μL) zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde für 22 h bei RT gerührt und der Reaktionsfortschritt sowie das Epimerenverhältnis über HPLC-Analyse ausgewertet ($L\text{-Thr}/D\text{-allo-Thr} = 9:1$).

(4'S,1''S,2''R)-2'-[1''-(N-Boc-D-*allo*-Isoleucinyl-Alaninyl-amino)-2''-O-*t*Bu-propyl)-4',5'-dihydro-[2,4'-bioxazol]-4-carbonsäureallylester

**134**

Das Amid **133** (1.44 g, 2.20 mmol) wurde in CH_2Cl_2 (22 mL) gelöst und bei $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ über 3 min tropfenweise mit DAST (320 μL , 2.42 mmol) versetzt. Nach 4 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde K_2CO_3 (608 mg, 4.40 mmol) zugegeben und anschließend über 2 h auf RT erwärmt. Nach Zugabe von gesättigter NaHCO_3 -Lösung (80 mL) wurden die entstehenden Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (3x 70 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl -Lösung (100 mL) gewaschen und anschließend mit Na_2SO_4 entwässert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Oxazolin **134** ohne weitere Reinigung für die nächste Stufe verwendet.

DC: $R_f = 0.16$ (Petrolether/Aceton = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$: 600 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.25 (s, 1 H, 21-H), 6.66 (d, $J = 7.3\text{ Hz}$, 1 H, 8-H), 6.60 (d, $J = 9.2\text{ Hz}$, 1 H, 1-H), 6.00 (ddt, $J = 16.9, 10.6, 5.8\text{ Hz}$, 1 H, 24-H), 5.32-5.44 (m, 2 H, 25-H₂), 5.30 (dd, $J = 10.3, 1.1\text{ Hz}$, 1 H, 17-H), 4.95-5.02 (s, 1 H, 12-H), 4.79-4.85 (m, 2 H, 23-H₂), 4.75 (t, $J = 8.8\text{ Hz}$, 1 H, 18-H_{2A}), 4.62-4.68 (m, 2 H, Ile- α -H, 18-H_{2B}), 4.55 (t, $J = 7.0\text{ Hz}$, 1 H, 9-H), 4.17 (m, 2 H, 3-H, 13-H), 1.95-2.04 (m, 1 H, 14-H), 1.43-1.45 (s, 9 H, Boc), 1.41 (d, $J = 6.8\text{ Hz}$, 3 H, 10-H₃), 1.16-1.26 (m, 2 H, 4-H₂), 1.14 (d, $J = 6.2\text{ Hz}$, 3 H, 6-H₃), 1.11 (s, 9 H, O-*t*Bu), 0.93 (t, $J = 7.4\text{ Hz}$, 3 H, 5-H₃), 0.83 (d, $J = 7.0\text{ Hz}$, 3 H, 15-H₃) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, CDCl_3 ; δ = 172.1 (C-7), 171.2 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Boc}}$), 168.8 (C-11), 163.0 (C-22), 160.5 (C-19), 144.8 (C-21), 133.3 (C-16, C-20), 131.6 (C-24), 119.1 (C-25), 80.0 ($\text{C}_{\text{Boc}}(\text{CH}_3)_3$), 74.2 ($\text{C}_{\text{OtBu}}(\text{CH}_3)_3$), 70.9 (C-18), 67.2 (C-3), 65.8 (C-23), 63.4 (C-17), 57.9 (C-13), 53.2 (C-2), 48.8 (C-9), 37.3 (C-14), 28.32 ($\text{C}_{\text{Boc}}(\text{CH}_3)_3$), 28.25 ($\text{C}_{\text{OtBu}}(\text{CH}_3)_3$), 26.3 (C-4), 20.5 (C-6), 18.6 (C-10), 14.2 (C-15), 11.7 (C-5) ppm.

HPLC: Methode H; t_R = 8.73 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{31}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_9\text{Na}$ 658.3422, gef.: 658.3422.

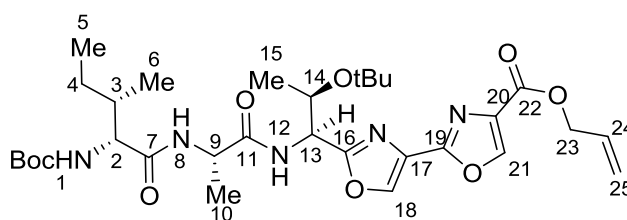
MS (ESI+): m/z : 658.7 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 636.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3279, 2878, 1713, 1651, 1504, 1366, 1157, 1111, 988 cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D$ = +28.4 (CHCl_3 , c = 1, T = 19 $^\circ\text{C}$).

Smp.: 112 $^\circ\text{C}$.

(1''S,2''R)-2'-[1''-(N-Boc-D-allo-Isoleucinyl-alaninyl)-amino-2''-O-tBu]-[2,4'-bisoxazol]-4-carbonsäureallylester



135

Unter Ar-Atmosphäre wurde Oxazolin **134** (1.13 g, 1.78 mmol) in einer Lösung aus MeCN/ CCl_4 /Pyridin (120 mL 3:2:3) gelöst. Bei -60°C wurde innerhalb von 40 min dreimal wasserfreies DBU (je 500 μL , 3.35 mmol) zugetropft und die Reaktionslösung unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur für 3 d stehen gelassen. Nach Zugabe von Toluol (30 mL) wurden die Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand mit CH_2Cl_2 (100 mL) und Phosphatpuffer (pH 3, 250 mL) versetzt und die wässrige Phase mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 2 eingestellt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (2x 100 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen und anschließend mit Na_2SO_4 entwässert. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Säulenchromatographie (100 g Kieselgel, Petrol-ether/Aceton = 3:1, dann 100% Aceton) wurde Oxazol **135** als farblosen Feststoff erhalten (683 mg, 49% über 2 Stufen).

DC: $R_f = 0.66$ (Petrolether/Aceton = 2:1).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.25\text{--}8.33$ (m, 2 H, 18-H, 21-H), 7.21–7.29 (m, 1 H, 1-H), 6.75 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, 8-H), 5.94–6.10 (m, 1 H, 24-H), 5.29–5.47 (m, 2 H, 25-H₂), 5.25–5.33 (m, 1 H, 12-H), 5.18 (dd, $J = 8.8, 5.6$ Hz, 1 H, 2-H), 4.85 (dq, $J = 5.8, 1.4$ Hz, 2 H, 23-H₂), 4.65 (m, 1 H, 9-H), 4.20 (m, 1 H, 13-H), 4.03 (m, 1 H, 3-H), 1.99–2.13 (m, 1 H, 14-H), 1.38–1.48 (m, 12 H, 10-H₃, Boc), 1.19–1.29 (m, 5 H, 4-H₂, 6-H₃), 1.12 (s, 9 H, O-*t*Bu), 0.90–0.95 (m, 3 H, 5-H₃), 0.86 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 15-H₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 172.2$ (C=O_{Boc}), 171.9 (C-11), 163.7 (C-19), 163.5 (C-7), 160.5 (C-22), 155.7 (C-16), 143.7 (C-21), 139.6 (C-18), 134.3 (C-20), 131.6 (C-24), 129.6 (C-17), 119.2 (C-25), 80.0 (C_{Boc}(CH₃)₃), 74.5 (C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 68.7 (C-3), 65.9 (C-23), 57.9 (C-13), 53.2 (C-2), 48.4 (C-9), 36.7 (C-14), 28.2 (C_{Boc}(CH₃)₃/C_{O*t*Bu}(CH₃)₃), 26.4 (C-4), 19.8 (C-6), 17.5 (C-10), 14.4 (C-15), 11.7 (C-5) ppm.

HPLC: Methode F; $t_R = 12.41$ min.

HRMS: Ber. für C₃₁H₄₇N₅O₉Na 656.3266, gef.: 656.3262.

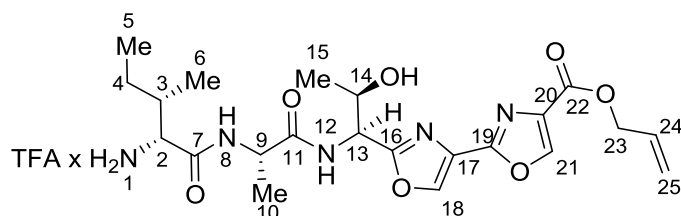
MS (ESI+): m/z : 1267.5 [2M+H]⁺, 651.3 [M+NH₄]⁺, 634.5 [M+H]⁺.

IR: $\nu = 3323, 2977, 1450, 1644, 1522, 1719, 1268, 1157, 1092, 675$ cm⁻¹.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -31.3$ (CHCl₃, $c = 0.52$, $T = 24$ °C).

Smp.: 167–168 °C.

**(1''S,2''R)-2'-[1''-(NH₂-*D*-allo-Isoleucinyl-alaninyl-amino)-2''-hydroxypropyl]-
[2,4'-bioxazol]-4-carbonsäureallylester-Trifluoroacetat**



124

Unter Ar-Atmosphäre wurde das geschützte Peptid **135** (440 mg, 0.69 mmol) in CH₂Cl₂ (3.8 mL) gelöst, tropfenweise mit Anisol (170 μL , 1.56 mmol) und TFA (3.8 mL, 100 Vol.-%) versetzt und die Lösung für 2.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde Toluol (4 mL) zugegeben, die Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand mit CH₂Cl₂ (3x 5 mL)

versetzt und das Lösungsmittel jeweils i.V. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt verwendet. Eine reine Probe des Ammoniumsalzes **124** wurde nach Säulenchromatographie (Petrolether/Aceton = 1:9) erhalten.

DC: $R_f = 0.29$ (Petrolether/Aceton = 1:9).

$^1\text{H-NMR}$: 250 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 9.16\text{--}9.38$ (m, 1 H, 8-H), 8.67–8.87 (m., 1 H, 12-H), 8.23 (s, 1 H, 21-H), 8.21 (s, 1 H, 18-H), 8.13 (br. s, 3 H, 1-H), 5.89–6.09 (m, 1 H, 24-H), 5.26–5.48 (m, 2 H, 25- H_2), 5.16 (d, $J = 6.2$ Hz, 1 H, 13-H), 4.83 (d, $J = 5.8$ Hz, 2 H, 23- H_2), 4.49 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H, 9-H), 4.45 (m, 1 H, 2-H), 4.29 (m, 1 H, 14-H), 2.18 (m, 1 H, 3-H), 1.57 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, 4- $\text{H}_{2\text{A}}$), 1.41 (d, $J = 6.9$ Hz, 3 H, 10- H_3), 1.21–1.36 (m, 1 H, 4- $\text{H}_{2\text{B}}$), 1.14 (d, $J = 5.8$ Hz, 3 H, 15- H_3), 0.99 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H, 6- H_3), 0.80–0.92 (m, 3 H, 5- H_3) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$: 63 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 173.8$ (C-11), 169.5 (C-7), 165.0 (C-19), 160.6 (C-22), 156.2 (C-16), 143.5 (C-21), 140.0 (C-18), 133.4 (C-20), 131.1 (C-24), 128.9 (C-17), 119.7 (C-25), 68.2 (C-14), 66.3 (C-23), 57.7 (C-2), 53.3 (C-13), 50.8 (C-9), 36.3 (C-3), 25.4 (C-4), 19.4 (C-15), 17.1 (C-10), 13.8 (C-6), 11.2 (C-5) ppm.

HPLC: Methode F; $t_R = 8.21$ min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_7$: 478.2296 gef.: 478.2295.

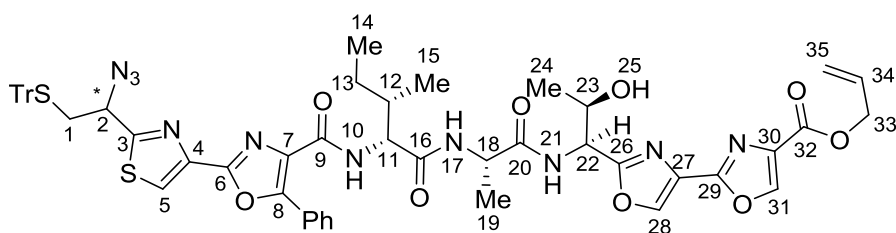
MS (ESI+): m/z : 576.4 $[\text{M}+\text{TFA}+\text{H}]^+$, 478.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 3094, 2886, 2662, 2330, 1790, 1659, 1528, 1119, 988, 918, 718$ cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -80.8$ (CHCl_3 , $c = 1$, $T = 23$ °C).

Smp.: 117 °C.

„Tetraazolpeptid 123“

**123**

Zu einer Lösung der Carbonsäure **85** (517 mg, 0.84 mmol) in CH_2Cl_2 (13 mL) wurden bei 0 °C HBTU (419 mg, 1.10 mmol) und Et_3N (360 μL , 2.07 mmol) zugegeben. Nach 25 min wurde eine Lösung von Amin **124** (396 mg, 0.69 mmol) in DMF (13 mL) über 2 min zugetropft und die Reaktionslösung anschließend bei RT für 2 d gerührt. Die Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt, mit Phosphatpuffer (pH 3, 40 mL) versetzt und mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH-Wert von 2 eingestellt. Nach Trennen der beiden Phasen wurde die wässrige Phase mit $\text{EtOAc}/\text{Et}_2\text{O}$ (1:1, 3x 60 mL) extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel anschließend i.V. entfernt. Säulenchromatographie (900 g Kieselgel, Petrolether/ EtOAc = 1:4) ergab Amid **123** als farblosen Feststoff (634 mg, 85%).

DC: R_f = 0.19 (Petrolether/Aceton = 3:2).

^1H -NMR: 300 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.11-8.21 (m, 4 H, 28-H/31-H/Phenyl- H_{ortho}), 8.03 (s, 1 H, 5-H), 7.60-7.88 (m, 3 H, 10-H/17-H/21-H), 7.17-7.52 (m, 18 H, Ph/Tr), 5.90-6.08 (m, 1 H, 34-H), 5.26-5.46 (m, 2 H, 35- H_2), 5.08-5.17 (m, 1 H, 22-H), 4.81 (d, J = 5.8 Hz, 2 H, 33- H_2), 4.66 (m, 1 H, 18-H), 4.44-4.54 (m, 1 H, 11-H), 4.26-4.38 (m, 1 H, 23-H), 4.16 (m, 1 H, 2-H), 2.78-3.04 (m, 2 H, 1- H_2), 2.00-2.15 (m, 1 H, 12-H), 1.40-1.62 (m, 3 H, 19- H_3), 1.18-1.32 (m, 2 H, 13- H_2), 1.14 (d, J = 5.6 Hz, 3 H, 24- H_3), 1.02 (d, J = 6.4 Hz, 3 H, 15- H_3), 0.87-0.99 (m, 3 H, 14- H_3) ppm.

^{13}C -NMR: 75 MHz, CDCl_3 ; δ = 172.7 (C-20), 172.6 (C-9), 171.7 (C-16), 169.5 (C-3), 163.8 (C-29), 160.6 (C-32), 155.5 (C-6), 154.1 (C-26), 154.0 (C-8), 152.8 (C-7), 144.2 (Tr), 143.7 (C-31), 142.6 (C-4), 139.8 (C-28), 133.2 (C-27), 131.5 (C-34), 130.3 (C-30), 129.5 (Ph/Tr), 129.4 (Ph/Tr), 129.3 (Ph/Tr), 129.0 (Ph/Tr), 128.4 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 127.9 (Ph/Tr), 127.0 (Ph/Tr), 126.6 (Ph/Tr), 122.2 (C-5), 119.3 (C-35), 67.9 ($\underline{\text{C}}(\text{Ph})_3$), 67.5 (C-23), 66.0 (C-33), 61.5 (C-2), 57.8 (C-11), 52.8 (C-22), 49.3 (C-18), 37.0 (C-1), 36.9 (C-12), 26.2 (C-13), 19.4 (C-24), 17.5 (C-19), 14.9 (C-15), 11.5 (C-14) ppm.

HPLC: Methode F; t_R = 15.25 min.

HRMS: Ber. für C₅₆H₅₄N₁₀O₉S₂Na 1097.3409, gef.: 1097.3407.

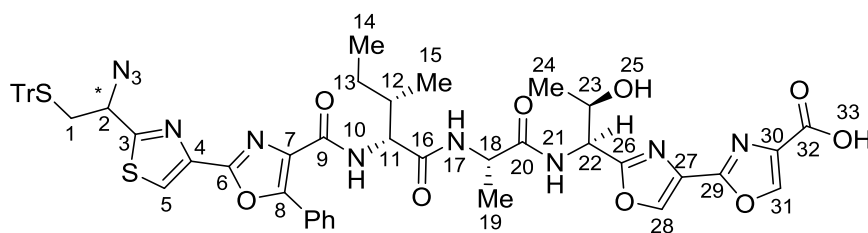
MS (ESI+): *m/z*: 1097.7 [M+Na]⁺, 1092.9 [M+NH₄]⁺.

IR: ν = 3734, 3628, 2114, 1653, 1507, 1447, 1255, 1107, 838, 729, 691, 669, 650, 557 cm⁻¹.

Optische Drehung: [α]_D = +1.4 (CHCl₃, c = 0.5, T = 24 °C).

Smp.: 118 °C.

„Carbonsäure 136“



136

Lösungen von Morpholin (160 μ L, 1.86 mmol) in engastem CH₂Cl₂ (0.9 mL) und Pd(dba)₂ (10.7 mg, 19.0 μ mol) in entgastem CH₂Cl₂ (0.96 mL) wurden zu Allylester **123** (100 mg, 93.0 μ mol) gegeben und die Mischung 4 h bei RT unter Lichtausschluss gerührt. Nach Versetzen der Reaktionslösung mit MeOH (0.5 mL), Auftragen auf Kieselgel und Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH = 9:1, dann CH₂Cl₂/MeOH = 9:1 + 1% HCOOH) wurde Carbonsäure **136** als gelber Schaum erhalten (93 mg, 97%).

DC: *R*_f = 0.43 (CHCl₃/MeOH = 9:1 + 2% HCOOH).

¹H-NMR: 600 MHz, CDCl₃; δ = 8.22 (m, 2 H, Phenyl-H_{ortho}), 8.18 (s, 1 H, 31-H), 8.10 (s, 1 H, 28-H), 8.04 (s, 1 H, 5-H), 7.89 (m, 2 H, 21-H, 10-H), 7.15-7.53 (m, 18 H, Ph/Tr, 17-H), 5.21 (m, 1 H, 22-H), 4.74 (m, 1 H, 18-H), 4.64 (m, 1 H, 11-H), 4.45 (m, 1 H, 23-H), 4.19 (d, *J* = 6.8 Hz, 1 H, 2-H), 2.99 (dd, *J* = 13.3, 5.4 Hz, 1 H, 1-H_{2A}), 2.87 (dd, *J* = 13.0, 7.3 Hz, 1 H, 1-H_{2B}), 2.14 (m, 1 H, 12-H), 1.49-1.62 (m, 1 H, 13-H_{2A}), 1.46 (m, 3 H, 19-H₃), 1.22-1.32 (m, 1 H, 13-H_{2B}), 1.17 (m, 3 H, 24-H₃), 1.02 (m, 3 H, 15-H₃), 0.94 (m, 3 H, 14-H₃) ppm.

¹³C-NMR: Über HSQC und HMBC Daten, 63 MHz, CDCl₃; δ = 169.5 (C-3), 144.2 (Ph/Tr), 144.1 (C-31), 142.0 (C-4), 139.5 (C-27), 129.5 (Ph/Tr), 128.4 (Ph/Tr), 128.1 (Ph/Tr), 127.0 (Ph/Tr), 121.8 (C-5), 68.2 (C(Ph)₃), 67.5 (C-23), 61.6 (C-2), 56.8 (C-11),

53.0 (C-22), 49.0 (C-18), 36.8 (C-1, C-12), 25.9 (C-13), 19.3 (C-24), 17.3 (C-19), 14.8 (C-15), 11.6 (C-14) ppm.

HPLC: Methode H; t_R = 13.62 min.

HRMS: Ber. für $C_{53}H_{51}N_{10}O_9S_2$ 1035.3276, gef.: 1035.3271.

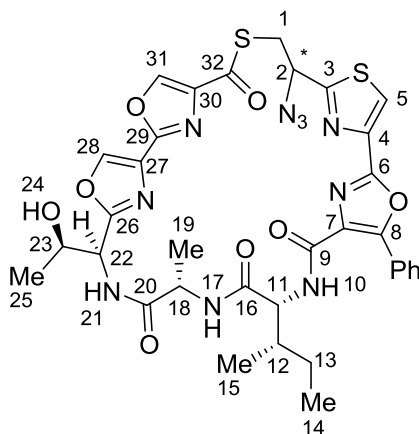
MS (ESI+): m/z : 1052.1 $[M+NH_4]^+$, 1035.3 $[M+H]^+$.

IR: ν = 3240, 2924, 2438, 2338, 2160, 1705, 1659, 1512, 1458, 1319, 1165, 1111 cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +3.4$ ($CHCl_3$, c = 1, T = 25 °C).

Smp.: 139-141 °C.

„Thiolacton 122“



122

Unter Ar-Atmosphäre wurde Carbonsäure **136** (79.0 mg, 76.0 μ mol) in CH_2Cl_2 (8 mL) gelöst und mit Et_3SiH (400 μ L, 5 Vol.-%) und TFA (240 μ L, 3 Vol.-%) versetzt. Nach 1 h wurden wasserfreies Toluol (5 mL) und wasserfreies CH_2Cl_2 (2 mL) zugegeben, die Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand mit CH_2Cl_2 (3x 2 mL) aufgenommen und erneut i.V. eingengt. Die so erhaltene ω -Thiol-Carbonsäure wurde ohne weitere Reinigung, in flüssigem N_2 eingefroren, für 5.5 h i.V. getrocknet und für die nächste Umsetzung verwendet.

DC: R_f = 0.23 ($CH_2Cl_2/MeOH$ = 9:1 + 1% $HCOOH$).

Über eine Spritzenpumpe wurden die Lösungen aus der zuvor hergestellten ω -Thiol-Carbonsäure in CH_2Cl_2/DMF (15.5 mL; 4,4:1) und PyBOP (47.0 mg, 91.0 μ mol) in CH_2Cl_2/DMF (15.5 mL; 4,4:1) zeitgleich über 4 h zu einer Lösung aus $EtNiPr_2$ (26.0 μ L, 152 μ mol) in CH_2Cl_2 (16.5 mL) zugetropft. Nach 20 h wurde der Reaktionslösung

HCOOH (4 Tropfen) zugefügt und die Lösungsmittel bei 30 °C i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (25 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 6:4, dann Petrolether/Aceton = 1:1, dann 100% Aceton) wurde Thiolacton **122** als farbloser Feststoff und als Epimerengemisch an Position 2 (1:1) erhalten (52 mg, 88% über 2 Stufen).

DC: $R_f = 0.38$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 9:1$).

$^1\text{H-NMR}$: 600 MHz, Aceton- d_6 ; $\delta = 8.68$ (s, 0.5 H, 5- H_A), 8.67 (s, 0.5 H, 5- H_B), 8.66 (s, 0.5 H, 28- H_A), 8.60 (s, 0.5 H, 31- H_A), 8.58 (s, 0.5 H, 28- H_B), 8.54 (s, 0.5 H, 31- H_B), 8.44-8.51 (m, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.15 (m, 1 H, 17-H), 7.94 (m, 1 H, 10-H), 7.66 (m, 1 H, 21-H), 7.47-7.57 (m, 3 H, Ph), 5.65 (dd, $J = 8.9, 3.2$ Hz, 0.5 H, 1- H_A), 5.54 (dd, $J = 9.4, 3.4$ Hz, 0.5 H, 1- H_B), 5.13 (ddd, $J = 14.2, 8.9, 4.8$ Hz, 1 H, 22-H), 4.54-4.62 (m, 1 H, 18-H), 4.50 (dd, $J = 7.6, 4.7$ Hz, 1 H, 11-H), 4.09-4.17 (m, 1 H, 23-H), 4.05 (dd, $J = 13.4, 3.5$ Hz, 1 H, 2- H_{2A}), 3.58-3.71 (m, 1 H, 2- H_{2B}), 2.06-2.08 (m, 1 H, 12-H), 1.55 (dd, $J = 14.0, 7.2$ Hz, 1 H, 13- H_{2A}), 1.44 (t, $J = 7.5$ Hz, 3 H, 19- H_3), 1.20-1.33 (m, 1 H, 13- H_{2B}), 1.01-1.05 (m, 3 H, 25- H_3), 0.95-0.98 (m, 3 H, 15- H_3), 0.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 14- H_3) ppm. Im $^1\text{H-NMR}$ waren die Signalsätze der an Position 2 epimeren Verbindungen zu beobachten.

$^{13}\text{C-NMR}$: 63 MHz, Aceton- d_6 ; $\delta = 195.0$ (C-32), 173.3 (C-26), 172.1 (C-3), 171.9 (C-20), 170.8 (C-16), 165.1 (C_A -29), 164.9 (C_B -29), 162.2 (C-9), 157.8 (C-6), 156.3 (C-8), 155.0 (C-7), 143.0 (C-27), 141.6 (C-4), 141.4 (C-31), 141.3 (C-5), 140.8 (C-30), 131.1 (Ph), 130.4 (Ph), 129.4 (Ph), 129.2 (Ph), 129.1 (Ph), 128.0 (Ph), 125.0 (C_A -28), 124.7 (C_B -28), 68.5 (C-23), 62.9 (C_A -2), 61.9 (C_B -2), 58.4 (C_A -11), 58.1 (C_B -11), 54.3 (C_A -22), 54.0 (C_B -22), 50.9 (C-18), 38.9 (C_A -12), 38.4 (C_B -12), 33.2 (C_A -1), 31.9 (C_B -1), 27.2 (C-15), 19.3 (C-25), 18.3 (C-19), 15.6 (C_A -13), 15.4 (C_B -13), 12.2 (C_A -14), 12.1 (C_B -14) ppm.

HPLC: Methode F; $t_R = 12.12$ min.

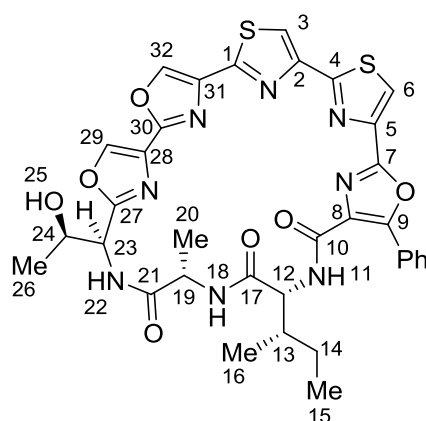
HRMS: Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{N}_{10}\text{O}_8\text{S}_2\text{Na}^+$: 797.1895, gef.: 797.1905.

MS (ESI+): m/z : 792.2 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 775.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 3179, 2106, 1983, 1659, 1513, 1242, 1111, 833, 687$ cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = -4.6$ (THF, $c = 1$, $T = 19$ °C).

Smp.: Zersetzung bei 160 °C.

“24-Hydroxy-Urukthapelstatin A”**121**

Eine Lösung des α -Azidothiolactons **122** (41.0 mg, 53.0 μ mol) in 2,6-Lutidin (1.9 mL) wurde tropfenweise mit einer Lösung von PPh_3 (20.8 mg, 79.0 μ mol) in 2,6-Lutidin (0.8 mL) versetzt, auf 60 °C erwärmt und das Reaktionsgefäß mit Ar gespült (10 sec). Nach 7 h bei 60 °C wurde auf RT abgekühlt und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Das entstandene Thiazolin **140** wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Umsetzung verwendet.

DC: $R_f = 0.10$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95:5$).

Unter Ar-Atmosphäre wurde das rohe Thiazolin **140** (etwa 53.0 μ mol) in CH_2Cl_2 (1.7 mL) gelöst und bei –70 °C mit Lösungen von DBU (11.8 μ L, 79.5 μ mol) in CH_2Cl_2 (500 μ L) und BrCCl_3 (6.30 μ L, 63.6 μ mol) in CH_2Cl_2 (500 μ L) versetzt. Über 8 h wurde auf –10 °C erwärmt und die Reaktionslösung danach direkt auf Kieselgel aufgetragen und säulenchromatographisch getrennt (25 g Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 95:5$, dann 100% Aceton), um das Thiazol **121** als farblosen Feststoff zu erhalten (30.6 mg, 79% über 2 Stufen).

DC: $R_f = 0.13$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 9:1$).

$^1\text{H-NMR}$: 600 MHz, Aceton- d_6 ; δ = 8.90 (s, 1 H, 6-H), 8.80-8.87 (m, 1 H, 18-H), 8.71 (s, 1 H, 3-H), 8.59 (s, 1 H, 29-H), 8.49 (s, 1 H, 32-H), 8.47 (d, $J = 7.7$ Hz, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.33 (d, $J = 7.5$ Hz, 1 H, 11-H), 8.18-8.24 (m, 1 H, 22-H), 7.45-7.57 (m, 4 H, Ph), 5.12 (dd, $J = 6.7, 4.5$ Hz, 1 H, 23-H), 4.87 (br. s, 1 H, 25-H), 4.83 (dd, $J = 8.6, 5.1$ Hz, 1 H, 12-H), 4.59 (t, $J = 7.4$ Hz, 1 H, 19-H), 4.36-4.43 (m, 1 H, 24-H), 2.17-2.25 (m, 1 H, 13-H), 1.58 (d, $J = 7.3$ Hz, 3 H, 20- H_3), 1.52-1.57 (m, 1 H, 14- $\text{H}_{2\text{A}}$), 1.17 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, 26- H_3), 1.11-1.16 (m, 1 H, 14- $\text{H}_{2\text{B}}$), 0.98 (d, $J = 6.8$ Hz, 3 H, 16- H_3), 0.89 (t, $J = 7.4$ Hz, 3 H, 15- H_3) ppm.

^{13}C -NMR: 63 MHz, Aceton- d_6 ; δ = 173.5 (C-21), 172.5 (C-17), 166.2 (C-1), 162.7 (C-27), 161.5 (C-7), 159.4 (C-30), 157.3 (C-7), 153.4 (C-9), 148.5 (C-31), 143.1 (C-28), 141.4 (C-5), 141.2 (C-3), 140.2 (C-2), 140.1 (C-6), 131.1 (Ph), 130.2 (Ph), 129.4 (Ph), 129.1 (Ph), 128.1 (Ph), 122.9 (C-29), 121.3 (C-32), 68.3 (C-24), 58.3 (C-12), 55.9 (C-23), 51.3 (C-19), 39.6 (C-13), 26.6 (C-14), 19.7 (C-26), 18.4 (C-20), 15.6 (C-16), 12.3 (C-15) ppm. Die Signale von C-10 und des *ipso*-Ph-Kohlenstoffs wurden nicht detektiert.

HPLC: Methode F; t_R = 11.57 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{N}_8\text{O}_8\text{S}_2^+$: 729.1908, gef.: 729.1911.

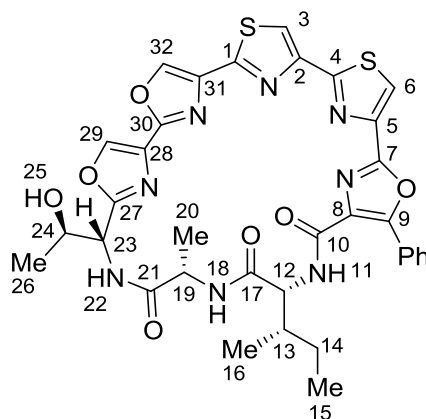
MS (ESI+): m/z : 729.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3264, 3186, 3140, 3055, 2662, 1867, 1651, 1520, 826, 741 cm^{-1} .

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +56.1$ (THF, c = 1, T = 19 $^\circ\text{C}$).

Smp.: Zersetzung bei 189 $^\circ\text{C}$.

“23-*epi*-24-Hydroxy-Urukthapelstatin A” (Epimer)



121-1

In Ansätzen bei denen das *D-allo*-Thr-Isomer nicht auf der Stufe des Amids **133** abgetrennt wurde, konnte das Epimer des Pentaazols **121** säulenchromatographisch als schwach gelber Feststoff auf dieser Stufe isoliert werden.

Analytische Daten des Epimers:

DC: R_f = 0.33 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ = 9:1).

^1H -NMR: 400 MHz, Aceton- d_6 ; δ = 8.83 (s, 1 H, 6-H), 8.65 (s, 1 H, 3-H), 8.57 (s, 1 H, 29-H), 8.53 (d, J = 7.0 Hz, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.43 (s, 1 H, 32-H), 8.37 (d, J = 10.8 Hz, 1 H, 22-H), 8.28-8.34 (m, 1 H, 18-H), 7.57-7.63 (m, 1 H, 11-H), 7.47-7.57 (m, 3 H, Ph),

5.11 (dd, $J = 8.8, 5.3$ Hz, 1 H, 12-H), 4.96 (dd, $J = 10.5, 5.0$ Hz, 1 H, 23-H), 4.32 (d, $J = 5.8$ Hz, 1 H, 19-H), 4.04-4.16 (m, 1 H, 24-H), 3.68 (br. s, 1 H, 25-H), 2.26-2.36 (m, 1 H, 13-H), 1.46-1.63 (m, 2 H, 14-H₂), 1.39 (d, $J = 7.3$ Hz, 3 H, 16-H₃), 1.34 (d, $J = 6.4$ Hz, 3 H, 20-H₃), 1.09-1.18 (m, 3 H, 26-H₃), 0.96 (t, $J = 7.3$ Hz, 3 H, 15-H₃) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, Aceton-d₆; $\delta = 173.3, 165.6, 162.9, 143.4, 139.5, 131.1, 129.4, 129.2, 128.1, 120.8, 70.1, 57.9, 54.6, 51.5, 38.9, 33.1, 27.4, 20.5, 17.7, 15.9, 12.0$ ppm

HPLC: Methode F; $t_R = 11.70$ min.

HRMS: Ber. für C₃₄H₃₃N₈O₈S₂⁺: 729.1908, gef.: 729.1911.

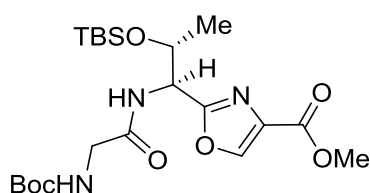
MS (ESI⁺): m/z : 729.4 [M+H]⁺.

IR: $\nu = 3264, 3186, 3140, 3055, 2662, 1867, 1651, 1520, 826, 741$ cm⁻¹.

Optische Drehung: $[\alpha]_D = +24.5$ (THF, $c = 0.5$, $T = 25$ °C).

Smp.: Zersetzung bei 180 °C.

(2'S,3'R)-2-(1'-(N-Boc-glyciny-amino)-2'-O-TBS-propyl)-oxazol-4-carbonsäuremethylester



146

Eine Lösung von HBTU (202 mg, 0.53 mmol), HOBt (81.0 mg, 0.53 mmol) und EtNiPr₂ (155 μ L, 0.89 mmol) in DMF (1 mL) wurde bei 0 °C mit einer Lösung von Boc-Gly-OH (78 mg, 446 μ mol) in CH₂Cl₂ (2.25 mL) versetzt. Nach 10 min wurde eine Lösung von Amin **145** (117 mg, 0.37 mmol)^[127] in DMF (1.25 mL) zugegeben und die Reaktionslösung für 21 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung auf 0 °C gekühlt, mit Phosphatpuffer (pH 3, 10 mL) und wässriger HCl-Lösung (1 M) auf pH 2 eingestellt und mit gesättigter NaCl-Lösung (2 mL) versetzt. Nach Trennen der Phasen wurde die wässrige phase mit EtOAc/Et₂O (1:1, 3x 15 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurde mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Säulenchromatographie (100 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 7:3) ergab Amid **146** als schwach gelbes Öl (131 mg, 85%).

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃; δ = 8.11 (s, 1 H, 5-H), 7.57 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, NH_{Amid}), 5.52-5.62 (m, 1 H, NH_{Boc}), 5.17 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, 1'-H), 4.44 (br. s, 1 H, OH), 4.30-4.38 (m, 1 H, 2'-H), 3.86-4.05 (m, 2 H, Gly- α -H₂), 3.85 (s, 3 H, OMe), 1.43 (s, 9 H, Boc), 1.29 (d, J = 6.4 Hz, 4 H, 3'-H₃) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃; δ = 170.3 (C=O_{Gly}), 164.2 (C-2), 161.2 (C=O_{OMe}), 156.0 (C=O_{Boc}), 143.9 (C-5), 132.5 (C-4), 80.1 (C(CH₃)₃), 67.9 (C-2'), 52.7 (C-1'), 52.2 (OMe), 44.0 (Gly-C α), 28.3 (C(CH₃)₃), 19.5 (C-3') ppm.

HPLC: Methode F; t_R = 7.99 min.

HRMS: Ber. für C₁₅H₂₃N₃O₇Na: 380.1428, gef.: 380.1430.

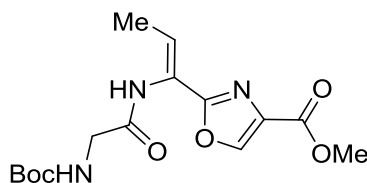
MS (ESI+): m/z : 737.2 [2M+Na]⁺, 715.4 [M+H]⁺, 380.5 [M+Na]⁺, 358.5 [M+H]⁺.

IR: ν = 3665, 3318, 2970, 2901, 1744, 1404, 1234, 1057, 887 cm⁻¹.

Optische Drehung. $[\alpha]_D$ = -30.7 (CHCl₃, c = 1, T = 25 °C).

Smp.: 60 °C.

(Z)-2-(1'-(2-N-Boc-glycinyloxy)-propen-1'-yl)-oxazol-4-carbonsäuremethylester



149

Zu einer Lösung von Alkohol **147** (8.00 mg, 22.0 μ mol) in CH₂Cl₂ (200 μ L) wurden NEt₃ (9.00 μ L, 65.0 μ mol) und MsCl (3.00 μ L, 39.0 μ mol) gegeben. Nach 4 h wurde DBU (10.0 μ L, 67.0 μ mol) zugetropft und weitere 4 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter NH₄Cl-Lösung (3 mL) versetzt und die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (3x 4 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 6:4) wurde das Z-Olefin **149** als farbloses Öl erhalten (5 mg, 93%; Roh-HPLC: Z/E = 97:3).

DC: R_f = 0.52 (Petrolether/Aceton = 1:1).

¹H-NMR: 300 MHz, CDCl₃; δ = 8.14 (s, 1 H, 5-H), 7.85-7.97 (m, 1 H, NH_{Amid}), 6.74 (q, J = 7.1 Hz, 1 H, 2'-H), 5.33-5.41 (m, 1 H, NH_{Boc}), 3.93-4.06 (m, 2 H, Gly- α -H₂), 3.91 (s, 3 H, OMe), 1.85 (d, J = 7.2 Hz, 4 H, 3'-H₃), 1.46 (s, 9 H, Boc) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃; δ = 168.2 (C=O_{Gly}), 161.4 (C=O_{OMe}), 160.3 (C-2), 143.7 (C-5), 133.8 (C-4), 130.4 (C-2'), 122.1 (C-1'), 80.4 (C(CH₃)₃), 52.2 (OMe), 44.5 (Gly-C α), 28.3 (C(CH₃)₃), 14.3 (C-3') ppm.

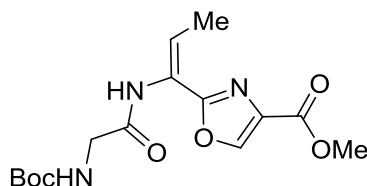
HPLC: Methode F; t_R = 8.71 min.

HRMS: Ber. für C₁₅H₂₁N₃O₆Na: 362.1323; gef.: 362.1326.

MS (ESI+): m/z : 362.2 [M+Na]⁺, 340.1 [M+H]⁺, 240.2 [M-Boc+H]⁺.

IR: ν = 3279, 2970, 2901, 2338, 1690, 1512, 1250, 1150, 1049, 671, 594 cm⁻¹.

(E)-2-(1'-(2-N-Boc-glyciny)-propen-1'-yl)-oxazol-4-carbonsäuremethylester



149-1

Alokohol **147** (10.0 mg, 28.0 μ mol) wurde in CH₂Cl₂ (1 mL) gelöst und mit einer Lösung von EDC x HCl (9.00 mg, 48.0 μ mol) in CH₂Cl₂/DMF (1 mL, 96:4) versetzt. Nach 5 min wurde CuCl (19.0 mg, 196 μ mol) zugegeben und die Suspension für 19 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit H₂O/gesättigte NaCl-Lösung (6 mL, 5:1) und EtOAc (5 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit EtOAc (2x 5 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 7:3) wurde das *E*-Isomer **149-1** als farbloses Öl erhalten (5.4 mg, 57%, Roh-HPLC: *E/Z* = 96:4).

DC: R_f = 0.55 (Petrolether/Aceton = 1:1).

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃; δ = 8.24 (s, 1 H, 5-H), 8.08-8.17 (m, 1 H, NH_{Amid}), 7.03 (q, J = 7.6 Hz, 1 H, 2'-H), 5.24-5.33 (m, 1 H, NH_{Boc}), 3.93 (s, 5 H, Gly- α -H₂, OMe), 2.16 (d, J = 7.6 Hz, 3 H, 3'-H₃), 1.47 (s, 9 H, Boc) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, CDCl_3 ; δ = 168.4 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Gly}}$), 161.3 (COOMe), 159.6 (C-2), 155.1 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Boc}}$), 143.2 (C-5), 133.2 (C-4), 124.6 (C-2'), 121.7 (C-1'), 80.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 52.2 (OMe), 45.0 (Gly-C_α), 28.2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 13.8 (C-3') ppm.

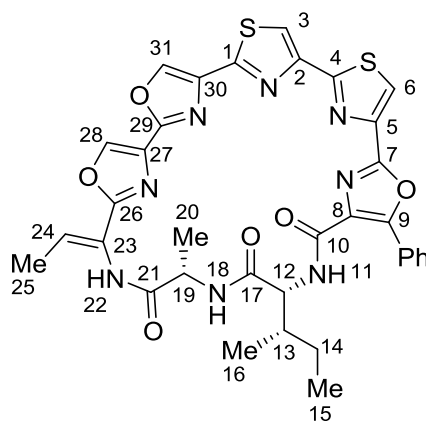
HPLC: Methode F; t_R = 9.10 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}$: 362.1323; gef.: 362.1326.

MS (ESI+): m/z : 362.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 340.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 240.2 $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3318, 2970, 2901, 2338, 1682, 1512, 1242, 1157, 1111, 1049, 772, 548 cm^{-1} .

Urukthapelstatin A



12

Der Alkohol **121** (2.40 mg, 3.29 μmol) wurden in CH_2Cl_2 (100 μL) gelöst und Lösungen von NEt_3 (1.40 μL , 9.88 μmol) und destilliertem MsCl (0.50 μL , 6.59 μmol) in CH_2Cl_2 (je 50 μL) zugegeben. Nach 2.5 h wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter NH_4Cl -Lösung (1 mL) versetzt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (6x 1 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurde mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Der erhaltene Methansulfonsäureester wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

DC: R_f = 0.43 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ = 9:1).

Unter Ar -Atmosphäre wurde der Methansulfonsäureester (3.29 μmol) mit einer Lösung aus destilliertem DBU (1.50 μL , 9.88 μmol) in CH_2Cl_2 (200 μL) versetzt und bei RT gerührt. Nach 1.5 h wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter NH_4Cl -Lösung (1 mL) und CH_2Cl_2 (1 mL) versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2 (5x 1 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (5 g Kieselgel,

CH₂Cl₂/MeOH = 9:1) wurde *Z*-Enamid **12** als farbloser Feststoff erhalten (1.4 mg, 61%, *Z/E*-Verhältnis nach HPLC = 95:5).

DC: $R_f = 0.36$ (CHCl₃/MeOH = 9:1).

¹H-NMR: 600 MHz, CDCl₃; δ = 8.69 (d, J = 10.6 Hz, 1 H, 11-H), 8.46 (d, J = 7.5 Hz, 2 H, Phenyl-H_{ortho}), 8.29 (m, 1 H, 22-H), 8.15 (s, 1 H, 31-H), 8.12 (s, 1 H, 28-H), 7.96-7.99 (m, 2 H, 6-H, 18-H), 7.76 (s, 1 H, 3-H), 7.43-7.55 (m, 3 H, Ph), 6.57 (q, J = 7.3 Hz, 1 H, 24-H), 5.08 (dd, J = 10.6, 4.6 Hz, 1 H, 12-H), 4.61 (t, J = 7.0 Hz, 1 H, 19-H), 2.27 (dt, J = 12.7, 6.5 Hz, 1 H, 13-H), 1.95 (d, J = 7.3 Hz, 3 H, 25-H₃), 1.49 (d, J = 7.0 Hz, 3 H, 20-H₃), 1.43-1.47 (m, 1 H, 14-H_{2A}), 1.27-1.32 (m, 1 H, 14-H_{2B}), 1.09 (d, J = 6.8 Hz, 3 H, 16-H₃), 0.92 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, 15-H₃) ppm.

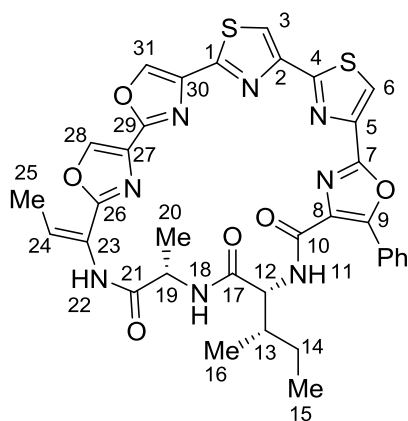
¹³C-NMR: Über HSQC und HMBC Daten, 150 MHz, CDCl₃; δ = 174.2, 171.7, 159.9, 138.3, 136.7, 130.1, 128.0, 127.8, 126.8, 121.8, 118.4, 117.7, 56.8, 49.8, 37.6, 26.3, 15.7, 14.6, 13.9, 11.5 ppm.

HPLC: Methode E; t_R = 14.25 min.

HRMS: Ber. für C₃₄H₃₁N₈O₆S₂ 711.1802, gef.: 711.1802.

MS (ESI+): m/z : 1438.3 [2M+NH₄]⁺, 728.5 [M+NH₄]⁺, 711.5 [M+H]⁺.

IR: ν = 3302, 2924, 2855, 2430, 1659, 1589, 1450, 1242, 1103, 725 cm⁻¹.

Urukthapelstatin A (*E*-Isomer)**12-1**

Eine Lösung von EDC x HCl (2.20 mg, 11.7 μmol) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$ (500 μL , 96:4) und wasserfreiem CuCl (4.70 mg, 48.0 μmol) wurden zu Alkohol **121** (2.80 mg, 3.84 μmol) gegeben. Nach 30 h wurde das Reaktionsgemisch auf Kieselgel aufgetragen und das *E*-Enamid **12-1** nach Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ = 95:5) als farbloser Feststoff erhalten (1.4 mg, 52%, *Z/E*-Verhältnis nach HPLC = 1:9).

DC: R_f = 0.44 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.68 (m, 1 H, 11-H), 8.43 (m, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.37 (m, 1 H, 22-H), 8.26 (s, 1 H, 28-H), 8.18 (s, 1 H, 31-H), 7.94 (s, 1 H, 6-H), 7.78 (s, 1 H, 3-H), 7.73 (m, 1 H, 18-H), 7.43-7.61 (m, 3 H, Ph), 6.54-6.67 (m, 1 H, 24-H), 5.00-5.14 (m, 1 H, 12-H), 4.47 (d, J = 6.8 Hz, 1 H, 19-H), 2.23-2.35 (m, 1 H, 13-H), 2.18 (d, J = 7.5 Hz, 3 H, 25- H_3), 1.47 (d, J = 6.3 Hz, 3 H, 20- H_3), 1.30-1.42 (m, 2 H, 14- H_2), 1.09 (d, J = 5.8 Hz, 3 H, 16- H_3), 0.89-0.94 (m, 3 H, 15- H_3) ppm.

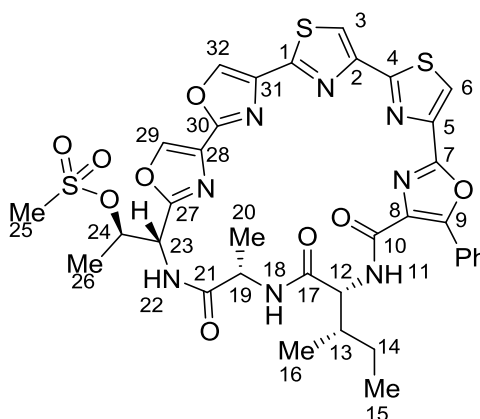
$^{13}\text{C-NMR}$: Über HSQC und HMBC Daten, 150 MHz, CDCl_3 ; δ = 174.8, 172.4, 130.5, 128.3, 128.1, 127.8, 126.6, 121.7, 118.5, 117.3, 57.0, 50.9, 49.7, 35.9, 28.8, 16.2, 13.0 ppm.

HPLC: Methode E; t_R = 14.68 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{N}_8\text{O}_6\text{S}_2$ 711.1802, gef.: 711.1802

MS (ESI+): m/z : 1438.3 $[2\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 728.5 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 711.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3294, 2932, 2515, 2438, 1721, 1520, 1273, 1180 cm^{-1} .

Alternative Darstellung des *E*-Isomers über den Methansulfonsäureester**188-1**

Der epimere Alkohol **121-1** (6.70 mg, 9.19 μmol) wurden in CH_2Cl_2 (300 μL) suspendiert und Lösungen von NEt_3 (4.00 μL , 27.6 μmol) und destilliertem MsCl (1.40 μL , 18.4 μmol) in CH_2Cl_2 (je 50 μL) zugegeben. Nach 0.5 h wurde eine Lösung von destilliertem DBU (4.00 μL , 27.6 μmol) in CH_2Cl_2 (50 μL) zugetropft und die Reaktionsmischung für weitere 3.5 h gerührt. Gesättigte NH_4Cl -Lösung (3 mL) wurde zugegeben, die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase danach mit CH_2Cl_2 (6x 3 mL) extrahiert. Nach Entwässern der vereinigten organischen Extrakte mit Na_2SO_4 und Entfernen des Lösungsmittels i.V. wurde durch Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 97:3$, dann 9:1) der Methansulfonsäureester **188-1** als farbloser Feststoff erhalten (3.4 mg).

DC: $R_f = 0.27$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95:5$).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.59$ (d, $J = 10.0$ Hz, 1 H, 22-H), 8.44 (d, $J = 7.1$ Hz, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 8.25 (s, 1 H, 29-H), 8.18 (s, 1 H, 32-H), 7.97 (s, 1 H, 6-H), 7.79 (s, 1 H, 3-H), 7.40-7.56 (m, 4 H, Ph), 5.51 (t, $J = 7.0$ Hz, 1 H, 24-H), 5.08 (d, $J = 9.9$ Hz, 1 H, 12-H), 4.93-5.04 (m, 1 H, 23-H), 4.34-4.50 (m, 1 H, 19-H), 3.08 (s, 3 H, 25- H_3), 2.22-2.35 (m, 1 H, 13-H), 1.58 (d, $J = 6.5$ Hz, 3 H, 26- H_3), 1.41-1.53 (m, 4 H, 20- H_3 , 14- H_2), 1.18 (d, $J = 7.1$ Hz, 3 H, 16- H_3), 0.83-0.99 (m, 4 H, 15- H_3) ppm.

HPLC: Methode F; $t_R = 12.27$ min.

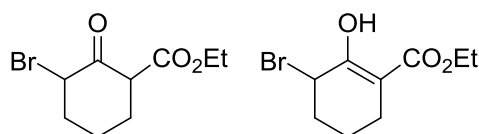
HRMS: Ber. für $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{N}_8\text{O}_9\text{S}_3$ 807.1684, gef.: 807.1692.

Unter Ar -Atmosphäre wurde der Methansulfonsäureester **188-1** (4.20 μmol) mit einer Lösung aus destilliertem DBU (6.00 μL , 42.1 μmol) in CH_2Cl_2 (200 μL) versetzt und bei RT gerührt. Nach 5.5 h wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter NH_4Cl -Lösung (2 mL) und CH_2Cl_2 (2 mL) versetzt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit CH_2Cl_2

(6x 2 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakten wurde mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Säulenchromatographie (5 g Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH = 96:4, dann 9:1) ergab *E*-Enamid **12-1** als farblosen Feststoff (2.3 mg, 35% über 2 Stufen, *E/Z*-Verhältnis nach HPLC des Rohproduktes = 94:6).

8.4 Darstellung verschiedener Tetrahydrocarbazole

3-Brom-2-oxo-cyclohexancarbonsäureethylester^[275]



162

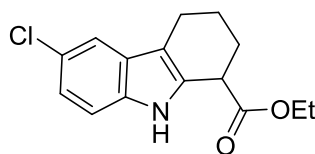
Unter N₂-Atmosphäre wurde bei 0 °C Br₂ (1.50 mL, 29.0 mmol) über 12 min zu einer Lösung von 2-Oxo-zyklohexylethylester (4.70 mL, 29.0 mmol) in Et₂O (9.8 mL) gegeben und die Mischung anschließend auf RT erwärmt. Nach 8 h wurde das Reaktionsgemisch langsam zu eiskalter gesättigter Na₂CO₃-Lösung (30 mL) gegeben und die wässrige Phase mit EtOAc (3x 40 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Na₂SO₄ entwässert und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Das α-Bromketon **162** wurde als gelbe Flüssigkeit erhalten (7.2 g, quant.). Die analytischen Daten des α-Bromketons stimmen mit den publizierten Daten überein^[275] und wiesen in CDCl₃ auf das Vorliegen der Enolform hin.

DC: $R_f = 0.35$ (Petrolether/CH₂Cl₂ = 1:1).

¹H-NMR: 250 MHz, MeOD-d₄; δ = 4.72 (t, J = 3.2 Hz, 1 H, 3-H), 4.15-4.31 (m, 2 H, 1'-H₂), 1.69-2.51 (m, 6 H, 4-H₂, 5-H₂, 6-H₂), 1.30 (t, J = 7.1 Hz, 3 H, 2'-H₃) ppm.

MS (ESI+): m/z : 249.3 [M+H]⁺.

6-Chlor-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester^[275]



165

4-Chloranilin (640 mg, 5.00 mmol) wurde mit Bromketon **162** (500 mg, 2.00 mmol) versetzt und bei 165 °C für 4 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung abgekühlt, in CH₂Cl₂ (30 mL) gelöst und die organische Phase mit wässriger HCl-Lösung (40 mL, 1 M) und gesättigter NaHCO₃-Lösung (40 mL) gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden jeweils mit CH₂Cl₂ (20 mL) reextrahiert, die vereinigten organischen Extrakte mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Säulenchromatographie (75 g

Kieselgel, Petrolether/Aceton = 9:1) ergab das Tetrahydrocarbazol **165** als farblosen Feststoff (437 mg, 78%).

DC: $R_f = 0.21$ (Petrolether/Aceton = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.48$ (br. s, 1 H, NH), 7.45 (d, $J = 1.5$ Hz, 1 H, 5-H), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, 8-H), 7.11 (dd, $J = 8.6, 1.9$ Hz, 1 H, 7-H), 4.23-4.29 (m, 2 H, 1'-H₂), 3.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 1 H, 1-H), 2.69 (t, $J = 6.1$ Hz, 2 H, 2-H₂), 2.15-2.24 (m, 2 H, 4-H₂), 2.00-2.11 (m, 1 H, 3-H_{2A}), 1.77-1.89 (m, 1 H, 3-H_{2B}), 1.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 172.4$ (COOEt), 134.2 (C-8a), 131.2 (C-9a), 128.4 (C-4b), 124.8 (C-6), 121.9 (C-7), 117.8 (C-5), 111.69 (C-8), 111.65 (C-4a), 61.3 (C-1'), 40.0 (C-1), 25.9 (C-4), 21.7 (C-3), 20.5 (C-2), 14.2 (C-2') ppm.

HPLC: Methode F; $t_R = 13.43$ min.

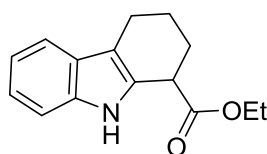
Elementaranalyse: Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$: C 64.87%, H 5.81%, N 5.04%, Cl: 12.76% gef.: C 64.92%, H: 5.81%, N: 5.00%, Cl: 12.77%.

MS (ESI+): m/z : 578.7 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 278.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 3325, 2936, 1709, 1443, 1308, 1180, 1161, 1061, 1026, 856, 795\text{ cm}^{-1}$.

Smp.: 85.5-87.5 °C.

1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester



170

Anilin (1.10 mL, 12.0 mmol) wurde mit α -Bromoketon **162** (1.24 g, 4.98 mmol) unter Rühren bei 5-7 mbar auf 140 °C erhitzt. Nach 3 h wurde der Rückstand auf RT abgekühlt, mit Et_2O (70 mL) versetzt und der entstandene Feststoff abfiltriert. Das erhaltene Filtrat wurde mit wässriger HCl-Lösung (50 mL, 1 M) und gesättigter NaCl-Lösung (70 mL) gewaschen, sowie mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Säulenchromatographie (75 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 9:1) ergab das Tetrahydrocarbazol **170** als gelbes Öl (878 mg, 73%).

DC: $R_f = 0.2$ (Petrolether/Aceton = 9:1).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.36$ (br. s, 1 H, NH), 7.51 (d, $J = 7.6$ Hz, 1 H, 8-H), 7.34 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 5-H), 7.14-7.22 (m, 1 H, 7-H), 7.06-7.14 (m, 1 H, 6-H), 4.27 (q, $J = 7.0$ Hz, 2 H, 1'-H₂), 3.87 (t, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 1-H), 2.72-2.80 (m, 2 H, 2-H₂), 2.18-2.26 (m, 2 H, 4-H₂), 2.04-2.15 (m, 1 H, 3-H_{2A}), 1.80-1.92 (m, 1 H, 3-H_{2B}), 1.30-1.37 (m, 3 H, 2'-H₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 172.3$ ($\underline{\text{COOEt}}$), 135.8, (C-8a), 129.3 (C-9a), 127.1 (C-4b), 121.5 (C-8), 118.9 (C-6), 117.9 (C-5), 111.7 (C-4a), 110.4 (C-7), 60.8 (C-1'), 39.9 (C-1), 25.8 (C-4), 21.5 (C-3), 20.4 (C-2), 13.9 (C-2') ppm.

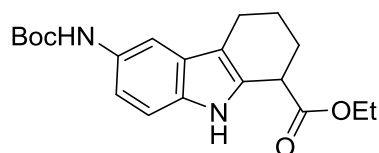
HPLC: Methode C; $t_R = 11.85$ min.

Elementaranalyse: Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_2$: C 74.05%, H 7.04%, N 5.76% gef.: C 74.12%, H: 7.11%, N: 5.67%.

MS (ESI+): m/z : 487.9 $[2\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 3399, 2936, 1717, 1620, 1447, 1296, 1234, 1153, 1026, 737$ cm^{-1} .

6-N-Boc-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester



163a

Mono-Boc-*para*-Phenylendiamin (450 mg, 2.16 mmol) wurde mit α -Bromketon **162** (270 mg, 1.08 mmol) nach AV7 in 4 h umgesetzt. Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrolether/Aceton = 4:1 + 0.5% HCOOH) ergab das Tetrahydrocarbazol **163a** als dunkelgelber Feststoff (195 mg, 50%).

DC: $R_f = 0.16$ (Petrolether/Aceton = 4:1 + 0.5% HCOOH).

$^1\text{H-NMR}$: 250 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.31$ (br. s, 1 H, NH), 7.56 (br. s, 1 H, 5-H), 7.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, 8-H), 6.98-7.06 (m, 1 H, 7-H), 6.46 (br. s, 1 H, NH_{Boc}), 4.24 (q, $J = 7.0$ Hz, 2 H, 1'-H₂), 3.83 (t, $J = 6.5$ Hz, 1 H, 1-H), 2.69 (t, $J = 5.8$ Hz, 2 H, 4-H₂), 2.12-2.25 (m, 2 H, 2-H₂), 1.94-2.12 (m, 1 H, 3-H_{2A}), 1.77-1.91 (m, 1 H, 3-H_{2B}), 1.54 (s, 9 H, Boc), 1.28-1.38 (m, 3 H, 2'-H₃) ppm.

^{13}C -NMR: 63 MHz, CDCl_3 ; δ = 172.6 ($\text{C=O}_{\text{COOEt}}$), 153.5 (C=O_{Boc}), 132.9 (C-6, C-8a), 130.5 (C-7), 127.6 (C-9a), 115.2 (C-4b), 112.0 (C-5), 110.8 (C-8), 109.1 (C-4a), 79.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 61.2 (C-1'), 40.1 (C-1), 28.4 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 26.0 (C-4), 21.8 (C-3), 20.7 (C-2), 14.3 (C-2') ppm.

HPLC: Methode I; t_R = 12.70 min.

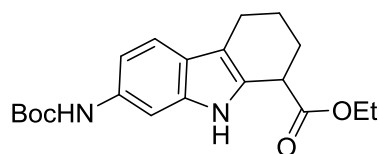
HRMS: Ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$: 381.1785; gef.: 381.1786.

MS (ESI+): m/z : 739.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 734.6 $[\text{2M}+\text{NH}_4]^+$, 717.9 $[\text{2M}+\text{H}]^+$, 359.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3618, 3337, 2978, 2507, 1697, 1520, 1481, 1454, 1366, 1292, 1231, 1153, 1049, 1026 cm^{-1} .

Smp.: 57.1-61.3 $^\circ\text{C}$.

7-*N*-Boc-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester



163b

Mono-Boc-*meta*-Phenylendiamin (300 mg, 1.44 mmol) wurde mit α -Bromketon **162** (180 mg, 0.72 mmol) nach AV7 in 4 h umgesetzt. Nach Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 4:1 + 0.5% HCOOH) wurde Tetrahydrocarbazol **163b** als beiger Feststoff (158 mg, 61%) isoliert.

DC: R_f = 0.43 (Petrolether/EtOAc = 7:3).

^1H -NMR: 400 MHz, CDCl_3 ; δ = 8.24 (br. s, 1 H, NH), 7.65-7.71 (m, 1 H, 8-H), 7.34 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 5-H), 6.80 (dd, J = 8.3, 1.9 Hz, 1 H, 6-H), 6.48 (br. s, 1 H, NH_{Boc}), 4.21-4.29 (m, 2 H, 1'-H₂), 3.78-3.86 (m, 1 H, 1-H), 2.67-2.74 (m, 2 H, 2-H₂), 2.13-2.26 (m, 2 H, 4-H₂), 2.00-2.13 (m, 1 H, 3-H_{2A}), 1.77-1.90 (m, 1 H, 3-H_{2B}), 1.50-1.59 (s, 9 H, Boc), 1.29-1.36 (m, 3 H, 2'-H₃) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, CDCl_3 ; δ = 172.5 ($\text{C=O}_{\text{COOEt}}$), 153.1 (C=O_{Boc}), 136.3 (C-7), 133.1 (C-8a), 129.1 (C-9a), 123.5 (C-4b), 118.3 (C-5), 111.7 (C-6, C-4a), 101.3 (C-8), 80.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 61.2 (C-1'), 39.9 (C-1), 28.4 (C-4), 25.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.7 (C-3), 20.7 (C-2), 14.3 (C-2') ppm.

HPLC: Methode I; $t_R = 12.99$ min.

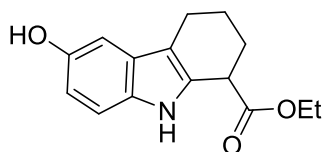
HRMS: Ber. für $C_{40}H_{52}N_4O_8Na$: 739.3677; gef.: 739.3678.

MS (ESI+): m/z : 734.5 $[2M+NH_4]^+$, 717.9 $[2M+H]^+$, 359.7 $[M+H]^+$.

IR: $\nu = 3337, 2978, 2932, 2528, 1701, 1501, 1366, 1231, 1153, 1026, 802\text{ cm}^{-1}$.

Smp.: 70.3-74.0 °C.

6-Hydroxyl-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester



163c

4-Aminophenol (1.00 g, 9.00 mmol) wurde mit α -Bromketon **162** (1.12 g, 4.50 mmol) nach AV7 in 3.5 h umgesetzt. Nach Säulenchromatographie (135 g Kieselgel, Petrol-ether/EtOAc = 4:1) wurde Tetrahydrocarbazol **163c** als rotbrauner Feststoff erhalten (677 mg, 58%).

DC: $R_f = 0.30$ (Petrolether/EtOAc = 7:3).

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$; $\delta = 8.22$ (br. s, 1 H, NH), 7.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 1 H, 8-H), 6.90 (d, $J = 2.6$ Hz, 1 H, 5-H), 6.73 (dd, $J = 8.6, 2.5$ Hz, 1 H, 7-H), 4.61 (br. s, 1 H, OH), 4.21-4.31 (m, 2 H, 1'-H₂), 3.83 (t, $J = 6.6$ Hz, 1 H, 1-H), 2.62-2.71 (m, 2 H, 2-H₂), 2.14-2.23 (m, 2 H, 4-H₂), 2.00-2.13 (m, 1 H, 3-H_{2A}), 1.77-1.90 (m, 1 H, 3-H_{2B}), 1.29-1.37 (m, 3 H, 2'-H₃) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, $CDCl_3$; $\delta = 172.6$ (\underline{COOEt}), 149.4 (C-6), 131.5 (C-8a), 130.9 (C-9a), 128.2 (C-4b), 111.7 (C-4a), 111.5 (C-8), 111.3 (C-7), 103.2 (C-5), 61.2 (C-1'), 40.3 (C-1), 26.1 (C-4), 21.8 (C-3), 20.8 (C-2), 14.3 (C-2') ppm.

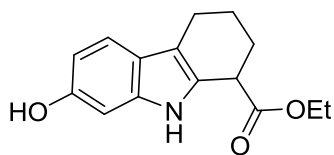
HPLC: Methode A; $t_R = 8.55$ min.

HRMS: Ber. für $C_{15}H_{17}NO_3Na$: 282.1101; gef.: 282.1104.

MS (ESI+): m/z : 518.7 $[2M+H]^+$, 276.6 $[M+NH_4]^+$, 260.7 $[M+H]^+$.

IR: $\nu = 3341, 2936, 1709, 1454, 1234, 1177, 1092, 1022, 799, 613\text{ cm}^{-1}$.

Smp.: 70.9-73.2 °C.

7-Hydroxy-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester**163d**

3-Aminophenol (500 mg, 4.50 mmol) wurde mit α -Bromketon **162** (0.56 g, 2.25 mmol) nach AV7 in 4 h umgesetzt. Nach Säulenchromatographie (100 g Kieselgel, Petrolether/ CH_2Cl_2 = 3:7 + 0.5% HCOOH) wurde Tetrahydrocarbazol **163d** als rotbrauner Feststoff (393 mg, 67%) erhalten.

DC: R_f = 0.20 (Petrolether/ CH_2Cl_2 = 3:7 + 0.5% HCOOH).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, MeOD-d_4 ; δ = 7.18 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 5-H), 6.74 (d, J = 2.0 Hz, 1 H, 8-H), 6.55 (dd, J = 8.5, 2.0 Hz, 1 H, 6-H), 4.14-4.25 (m, 2 H, 1'- H_2), 3.78 (t, J = 5.8 Hz, 1 H, 1-H), 2.59-2.68 (m, 2 H, 2- H_2), 2.03-2.21 (m, 2 H, 4- H_2), 1.90-2.03 (m, 1 H, 3- H_{2A}), 1.76-1.87 (m, 1 H, 3- H_{2B}), 1.27 (t, J = 7.2 Hz, 3 H, 2'- H_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, MeOD-d_4 ; δ = 175.4 (COOEt), 154.1 (C-7), 139.0 (C-8a), 129.6 (C-9a), 122.7 (C-4b), 119.2 (C-5), 111.9 (C-4a), 109.5 (C-6), 97.7 (C-8), 62.2 (C-1'), 41.5 (C-1), 28.2 (C-4), 22.6 (C-3), 21.9 (C-2), 14.7 (C-2') ppm.

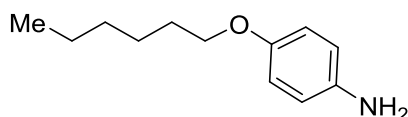
HPLC: Methode A; t_R = 8.29 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NO}_3$: 260.1281; gef.: 260.1282.

MS (ESI+): m/z : 260.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3318, 2913, 2542, 1701, 1628, 1462, 1288, 1200, 1150, 1030, 799 cm^{-1} .

Smp.: 145.7-147.5 $^\circ\text{C}$.

4-Hexyloxyaminophenol**161f**

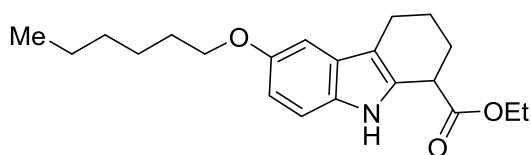
4-Aminophenol (100 mg, 0.9 mmol) wurden bei 0 $^\circ\text{C}$ in DMF (3.6 mL) gelöst und mit Bromhexan (140 μL , 1.08 mmol) und KO^tBu (120 mg, 1.08 mmol) versetzt. Die Lösung wurde bei RT für 4 h gerührt, anschließend bei 0 $^\circ\text{C}$ mit H_2O (20 mL) und gesättigter

NaCl-Lösung (20 mL) versetzt und die wässrige Phase mit EtOAc (3x 30 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 9:1 + 0.5% NEt₃) ergab den Ether **161f** als brauner Feststoff (127 mg, 74%). Die analytischen Daten stimmen mit den publizierten Daten überein.^[312]

DC: R_f = 0.26 (Petrolether/EtOAc = 9:1).

¹H-NMR: 400 MHz, CDCl₃; δ = 6.70-6.83 (m, 2 H, Ar), 6.60-6.70 (m, 2 H, Ar), 3.89 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, O-CH₂), 3.21 (br. s, 2 H, NH₂), 1.67-1.83 (m, 2 H, CH₂), 1.40-1.53 (m, 2 H, CH₂), 1.27-1.40 (m, 4 H, 2x CH₂), 0.83-0.97 (m, 3 H, CH₃) ppm.

6-Hexyloxy-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester



163f

4-Hexyloxyaminophenol (**161f**) (124 mg, 0.64 mmol) wurde mit α -Bromketon **162** (80.0 mg, 0.32 mmol) nach AV7 in 21 h umgesetzt. Nach Säulenchromatographie (16 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 4:1) wurde Tetrahydrocarbazol **163f** als braunes Öl (63 mg, 58%) erhalten.

DC: R_f = 0.44 (Petrolether/EtOAc = 4:1 + 0.5% HCOOH).

¹H-NMR: 300 MHz, CDCl₃; δ = 8.31 (br. s, 1 H, NH), 7.22 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, 8-H), 6.97 (s, 1 H, 5-H), 6.85 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, 7-H), 4.25 (q, J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H₂), 4.03 (t, J = 6.6 Hz, 2 H, 1''-H₂), 3.84 (t, J = 6.3 Hz, 1 H, 1-H), 2.71 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, 4-H₂), 2.15-2.32 (m, 2 H, 2-H₂), 1.97-2.15 (m, 1 H, 3-H_{2A}), 1.71-1.97 (m, 3 H, 2''-H₂, 3-H_{2B}), 1.46-1.66 (m, 2 H, 3''-H₂), 1.23-1.46 (m, 7 H, 4''-H₂, 5''-H₂, 6''-H₃), 0.95 (t, J = 6.7 Hz, 3 H, 2'-H₃) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, CDCl₃; δ = 172.6 (COOEt), 153.3 (C-6), 131.1 (C-8a), 130.3 (C-9a), 127.6 (C-4b), 112.2 (C-8), 111.7 (C-7), 111.3 (C-4a), 101.7 (C-5), 69.0 (C-1''), 61.2 (C-1'), 40.1 (C-1), 31.7 (C-4''), 29.5 (C-2''), 26.0 (C-4), 25.8 (C-3''), 22.6 (C-2''), 21.8 (C-3), 20.8 (C-2), 14.3 (C-6''), 14.0 (C-2') ppm.

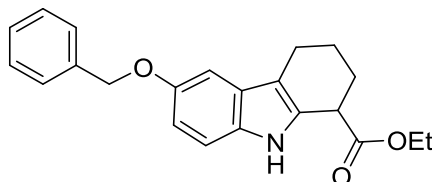
HPLC: Methode I; t_R = 14.00 min.

HRMS: Ber. für $C_{21}H_{30}NO_3$: 344.2220; gef.: 344.2224.

MS (ESI+): m/z : 360.7 $[M+NH_4]^+$.

IR: ν = 3360, 2932, 2492, 1754, 1597, 1458, 1393, 1281, 1204, 1084, 1049, 1022, 802 cm^{-1} .

6-Benzyloxy-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester



163g

4-Benzyloxyanilin (1.01 g, 5.06 mmol) wurde mit α -Bromketon **30** (631 mg, 2.53 mmol) nach AV7 in 16 h umgesetzt. Säulenchromatographie (150 g Kieselgel, Petrol-ether/EtOAc = 7:3) ergab Tetrahydrocarbazol **163g** als gelbes Öl (610 mg, 69%).

DC: R_f = 0.62 (Petrolether/EtOAc = 7:3).

1H -NMR: 400 MHz, $CDCl_3$; δ = 8.27 (br. s, 1 H, NH), 7.49 (d, J = 7.0 Hz, 2 H, Phenyl- H_{ortho}), 7.36-7.45 (m, 2 H, Phenyl- H_{meta}), 7.29-7.36 (m, 1 H, Phenyl- H_{para}), 7.23 (d, J = 8.8 Hz, 1 H, 8-H), 7.04 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, 5-H), 6.90 (dd, J = 8.8, 2.3 Hz, 1 H, 7-H), 5.11 (s, 2 H, 1''- H_2), 4.20-4.31 (m, 2 H, 1'- H_2), 3.84 (t, J = 6.4 Hz, 1 H, 1-H), 2.69 (t, J = 5.4 Hz, 2 H, 4- H_2), 2.14-2.25 (m, 2 H, 2- H_2), 1.95-2.14 (m, 1 H, 3- H_{2A}), 1.84 (dd, J = 12.9, 6.4 Hz, 1 H, 3- H_{2B}), 1.33 (t, J = 7.2 Hz, 3 H, 2'- H_3) ppm.

^{13}C -NMR: 101 MHz, $CDCl_3$; δ = 172.6 (\underline{COOEt}), 153.1 (C-6), 131.3 (C-8a), 128.5 (Phenyl- C_{meta}), 127.7 (Phenyl- C_{para} , C-9a, Phenyl- C_{ipso}), 127.6 (Phenyl- C_{meta} , C-4b), 112.4 (C-7), 111.8 (C-4a), 111.4 (C-8), 102.3 (C-5), 71.0 (C-1''), 61.2 (C-1'), 40.1 (C-1), 26.0 (C-2), 21.8 (C-3), 20.8 (C-4), 14.3 (C-2') ppm.

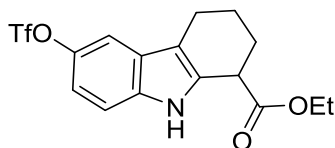
HPLC: Methode I; t_R = 13.71 min.

HRMS: Ber. für $C_{22}H_{24}NO_3$: 350.1751; gef.: 350.1751.

MS (ESI+): m/z : 716.3 $[2M+NH_4]^+$, 699.3 $[2M+H]^+$, 350.7 $[M+H]^+$.

IR: ν = 3364, 2932, 2484, 1721, 1540, 1165, 1142, 1018 cm^{-1} .

6-Trifluormethansulfonyloxy-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester



173

Eine Lösung von 6-Hydroxytetrahydrocarbazol **163c** (50.0 mg, 0.19 mmol) in CH_2Cl_2 (2 mL) wurde bei $-10\text{ }^\circ\text{C}$ tropfenweise mit Et_3N (50.0 μL , 0.29 mmol) und Tf_2O (38.0 μL , 0.23 mmol) versetzt und über 2 h auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt. Anschließend wurde Toluol (1 mL) zugegeben und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in EtOAc (20 mL) aufgenommen, mit H_2O (15 mL) und Phosphatpuffer (pH 3, 15 mL) gewaschen und die wässrigen Phasen jeweils mit EtOAc (10 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (7.5 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 4:1) wurde Trifluormethansulfonsäureester **173** als hellgelbes Öl erhalten (59 mg, 80%).

DC: $R_f = 0.24$ (Petrolether/EtOAc = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.69$ (br. s, 1 H, NH), 7.36 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 5-H), 7.30 (d, $J = 8.8$ Hz, 1 H, 8-H), 7.03 (dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, 1 H, 7-H), 4.17-4.33 (m, 2 H, 1'- H_2), 3.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 1 H, 1-H), 2.70 (t, $J = 5.5$ Hz, 2 H, 4- H_2), 2.15-2.29 (m, 2 H, 2- H_2), 1.95-2.15 (m, 1 H, 3- H_{2A}), 1.73-1.95 (m, 1 H, 3- H_{2B}), 1.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, 2'- H_3) ppm.

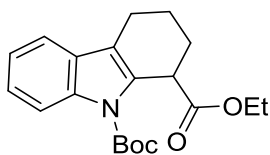
$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 172.2$ ($\underline{\text{COOEt}}$), 143.4 (C-6), 134.7 (C-8a), 132.6 (C-9a), 127.6 (C-4b), 118.8 (q, $J = 320.6$ Hz, CF_3), 114.7 (C-7), 112.7 (C-4a), 111.6 (C-8), 110.8 (C-5), 61.5 (C-1'), 40.0 (C-1), 25.8 (C-2), 21.7 (C-3), 20.5 (C-4), 14.2 (C-2') ppm.

HPLC: Methode I; $t_R = 13.73$ min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{NO}_5\text{S}$: 392.0774; gef.: 392.0774.

MS (ESI+): m/z : 392.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 3364, 2970, 2330, 1713, 1412, 1204, 1096, 880, 802, 602\text{ cm}^{-1}$.

9-*N*-Boc-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäureethylester**174**

Eine Lösung von Boc_2O (92.0 μL , 432 μmol) und DMAP (2.50 mg, 21.0 μmol) in MeCN (140 μL) wurde bei RT zu Tetrahydrocarbazol **170** (100 mg, 411 μmol) in MeCN (690 μL) gegeben. Zusätzlich wurden nach 1 h Boc_2O (9.00 μL , 41.0 μmol) und nach 4 h DMAP (4.00 mg, 34.0 μmol) und NEt_3 (120 μL , 0.82 mmol) zur Reaktionslösung gegeben. Nach 21 h wurde die Reaktionsmischung mit Toluol (0.5 mL) versetzt und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in EtOAc (5 mL) gelöst und mit wässriger HCl-Lösung (2x 4 mL, 1 M) und gesättigter NaCl-Lösung (4 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit MgSO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Das Boc-geschützte Tetrahydrocarbazol **174** wurde als gelbes Öl erhalten (124 mg, 88%).

DC: $R_f = 0.22$ (Petrolether/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2 = 3:7$).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 8.13$ (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 8-H), 7.45 (d, $J = 7.3$ Hz, 1 H, 5-H), 7.18-7.36 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 4.31 (t, $J = 5.3$ Hz, 1 H, 1-H), 4.12-4.24 (m, 2 H, 1'-H₂), 2.56-2.84 (m, 2 H, 4-H₂), 2.08-2.32 (m, 2 H, 2-H₂), 1.77-1.96 (m, 2 H, 3-H₂), 1.67 (s, 9 H, Boc), 1.26 (t, $J = 7.2$ Hz, 3 H, 2'-H₃) ppm.

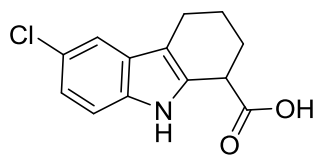
$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 173.3$ ($\text{C=O}_{\text{COOEt}}$), 150.1 (C=O_{Boc}), 135.5 (C-8a), 131.5 (C-9a), 128.9 (C-4b), 123.6 (C-6), 121.9 (C-7), 118.1 (C-4a), 117.7 (C-5), 115.2 (C-8), 83.2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 60.2 (C-1'), 41.7 (C-1), 27.80 (C-2), 27.75 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.6 (C-4), 19.5 (C-3), 13.8 (C-2') ppm.

HPLC: Methode F; $t_R = 14.68$ min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_4\text{Na}$: 366.1676; gef.: 366.1681.

MS (ESI+): m/z : 687.6 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 342.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 2978, 2901, 1721, 1540, 1366, 1319, 1026, 849, 748$ cm^{-1} .

6-Chlor-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carbonsäure**176**

Der Ethylester **165** (100 mg, 0.36 mmol) wurde in EtOH (3.6 mL) gelöst und tropfenweise mit wässriger NaOH-Lösung (0.90 mL, 0.4 M) versetzt. Nach 2.5 h bei RT wurden die Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand in H₂O (7 mL) gelöst und mit CH₂Cl₂ (7 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 2 gebracht und anschließend mit CH₂Cl₂ (2x 10 mL) extrahiert. Nach Entwässern der vereinigten organischen Extrakte mit Na₂SO₄ wurde das Lösungsmittel i.V. entfernt und die Carbonsäure **176** als beiger Feststoff erhalten (86 mg, 96%).

DC: $R_f = 0.38$ (CHCl₃/MeOH = 95:5 + 0.5% HCOOH).

¹H-NMR: 250 MHz, MeOD-d₄; $\delta = 7.34$ (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H, 5-H), 7.25 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, 8-H), 6.94-7.05 (m, 1 H, 7-H), 3.82 (t, $J = 5.8$ Hz, 1 H, 1-H), 2.58-2.72 (m, 2 H, 4-H₂), 1.77-2.24 (m, 4 H, 2-H₂, 3-H₂) ppm.

¹³C-NMR: 63 MHz, MeOD-d₄; $\delta = 176.8$ (COOH), 136.3 (C-8a), 133.6 (C-9a), 129.6 (C-4b), 125.3 (C-6), 122.2 (C-7), 118.2 (C-5), 113.1 (C-8), 111.7 (C-4a), 41.3 (C-1), 28.1 (C-4), 22.6 (C-3), 21.7 (C-2) ppm.

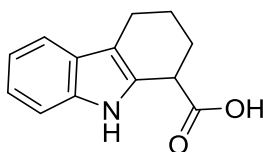
HPLC: Methode F; $t_R = 11.53$ min.

HRMS: Ber. für C₁₃H₁₃ClNO₂: 250.0629; gef.: 250.0629.

MS (ESI+): m/z : 250.4 [M+H]⁺.

IR: $\nu = 3453, 2974, 1694, 1420, 1300, 1223, 1057, 799$ cm⁻¹.

Smp.: 136.1-137.1 °C.

1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol-1-carbonsäure**177**

Der Ethylester **170** (100 mg, 0.41 mmol) wurde in EtOH (4 mL) gelöst und tropfenweise mit wässriger NaOH-Lösung (1.00 mL, 0.4 M) versetzt. Nach 3.5 h bei RT wurden die Lösungsmittel i.V. entfernt, der Rückstand in H₂O (20 mL) gelöst, mit CH₂Cl₂ (20 mL) gewaschen, die wässrige Phase mit wässriger HCl-Lösung (1 M) auf einen pH von 2 gebracht und anschließend mit CH₂Cl₂ (2x 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Na₂SO₄ entwässert, das Lösungsmittel i.V. entfernt und Carbonsäure **177** als brauner Feststoff erhalten (73 mg, 83%).

DC: $R_f = 0.13$ (CHCl₃/MeOH = 98:2 + 0.5% HCOOH).

¹H-NMR: 400 MHz, MeOD-d₄; δ = 7.36 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, 8-H), 7.27 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, 5-H), 6.97-7.07 (m, 1 H, 7-H), 6.88-6.97 (m, 1 H, 6-H), 3.81 (t, J = 5.9 Hz, 1 H, 1-H), 2.58-2.76 (m, 2 H, 4-H₂), 2.04-2.27 (m, 2 H, 2-H₂), 1.99 (ddd, J = 9.5, 6.5, 3.5 Hz, 1 H, 3-H_{2A}), 1.74-1.91 (m, 1 H, 3-H_{2B}) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, MeOD-d₄; δ = 177.1 (COOH), 138.0 (C-8a), 131.7 (C-9a), 128.6 (C-4b), 122.2 (C-7), 119.5 (C-6), 118.8 (C-8), 111.9 (C-5), 111.7 (C-4a), 41.3 (C-1), 28.3 (C-4), 22.8 (C-3), 22.0 (C-2) ppm.

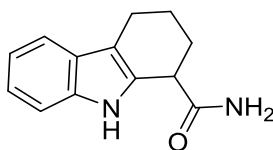
HPLC: Methode F; t_R = 10.70 min.

HRMS: Ber. für C₁₃H₁₄NO₂: 216.1019; gef.: 216.1020.

MS (ESI+): m/z : 430.9 [2M+H]⁺, 216.6 [M+H]⁺.

IR: ν = 3402, 2924, 2430, 1697, 1620, 1458, 1296 cm⁻¹.

Smp.: 103-104 °C.

1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol-1-carboxamid**158**

In einem ausgeheizten Druckrohr wurde der Ethylester **170** (750 mg, 3.08 mmol) mit KCN (120 mg, 1.85 mmol) vorgelegt, in einer methanolischen NH_3 -Lösung (11.5 mL, 7 M in MeOH) gelöst und die Reaktionsmischung für 2.5 d bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde auf RT abgekühlt, die Suspension mit Toluol (5 mL) versetzt und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der Rückstand wurde in CH_2Cl_2 (30 mL) aufgenommen und mit gesättigter NaCl-Lösung (20 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (2x 30 mL) reextrahiert, die organischen Phasen vereinigt, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (75 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 1:4) wurde das Carboxamid **158** als beiger Feststoff erhalten (412 mg, 62%).

DC: $R_f = 0.15$ (Petrolether/EtOAc = 1:4).

^1H -NMR: 300 MHz, MeOD-d_4 ; $\delta = 7.39$ (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, 8-H), 7.21-7.33 (m, 1 H, 5-H), 6.90-7.15 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 3.70 (t, $J = 6.1$ Hz, 1 H, 1-H), 2.57-2.82 (m, 2 H, 4-H₂), 2.06-2.17 (m, 2 H, 2-H₂), 1.70-2.07 (m, 2 H, 3-H₂) ppm.

^{13}C -NMR: 63 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 177.0$ (C=O), 137.1 (C-8a), 131.2 (C-9a), 128.1 (C-4b), 123.0 (C-7), 120.3 (C-6), 119.3 (C-8), 113.1 (C-4a), 112.0 (C-5), 42.7 (C-1), 28.7 (C-4), 22.2 (C-3), 21.6 (C-2) ppm.

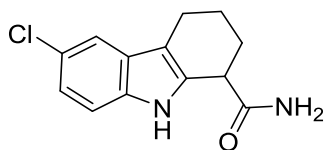
HPLC: Methode F; $t_R = 9.53$ min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$: 215.1179; gef.: 215.1180.

MS (ESI+): m/z : 215.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 3279, 2932, 2507, 1651, 1458, 1234 \text{ cm}^{-1}$.

Smp.: 70-73°C.

6-Chlor-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carboxamid (EX-527)**157**

In einem ausgeheizten Druckrohr wurden Ethylester **165** (187 mg, 0.67 mmol) und KCN (4.40 mg, 68.0 μ mol) vorgelegt, in einer methanolischen NH_3 -Lösung (2.5 mL, 7 M in MeOH) gelöst und die Reaktionsmischung für 2.5 d bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde auf RT abgekühlt, die Suspension mit Toluol (2 mL) versetzt, die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der Rückstand wurde in CH_2Cl_2 (10 mL) aufgenommen und mit gesättigter NaCl-Lösung (5 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit CH_2Cl_2 (10 mL) reextrahiert, die organischen Phasen vereinigt, mit Na_2SO_4 entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (20 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 1:4) wurde das Carboxamid **157** als beiger Feststoff erhalten (129 mg, 77%). Durch Kristallisation aus heißem Petrolether/Aceton (1:1) konnte eine höhere Reinheit erzielt werden.

DC: R_f = 0.13 (Petrolether/EtOAc = 1:4).

^1H -NMR: 300 MHz, MeOD-d_4 ; δ = 7.32-7.42 (m, 1 H, 5-H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, 8-H), 7.00 (dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 1 H, 7-H), 3.75 (t, J = 6.3 Hz, 1 H, 1-H), 2.62-2.77 (m, 2 H, 4- H_2), 2.08-2.26 (m, 2 H, 2- H_2), 1.93-2.08 (m, 1 H, 3- H_{2A}), 1.74-1.94 (m, 1 H, 3- H_{2B}) ppm.

^{13}C -NMR: 63 MHz, MeOD-d_4 ; δ = 179.0 (C=O), 136.5 (C-8a), 134.1 (C-9a), 129.8 (C-6), 125.4 (C-4b), 122.4 (C-8), 118.4 (C-5), 113.1 (C-7), 112.3 (C-4a), 43.0 (C-1), 29.5 (C-2), 22.6 (C-3), 21.8 (C-4) ppm.

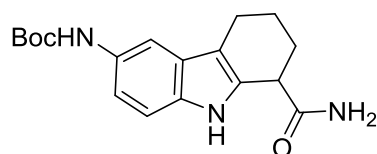
HPLC: Methode F; t_R = 10.43 min.

HRMS: Ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{ClN}_2\text{O}$: 249.0789; gef.: 249.0790.

MS (ESI+): m/z : 249.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: ν = 3298, 2986, 2561, 1655, 1582, 1443, 1308, 1057, 795 cm^{-1} .

Smp.: 135-136 °C.

6-*N*-Boc-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carboxamid**179a**

Unter N₂-Atmosphäre wurde Ethylester **163a** (162 mg, 0.45 mmol) in entgastem Ethanol (4.5 mL) gelöst und mit entgaster wässriger NaOH-Lösung (1.1 mL, 1 M) versetzt. Nach 4 h wurde wässrige HCl-Lösung (1.1 mL, 1 M) zur Reaktionsmischung getropft und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Die erhaltene Carbonsäure wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Umsetzung verwendet.

DC: $R_f = 0.18$ (CHCl₃/MeOH = 95:5 + 0.5% HCOOH).

Die oben hergestellte Carbonsäure (49.6 mg, 0.15 mmol) wurde in MeCN (390 µL) suspendiert und mit Pyridin (8.00 µL, 93.0 µmol), Boc₂O (42.0 µL, 195 µmol) sowie NH₄HCO₃ (21.0 mg, 266 µmol) versetzt. Nach 27 h bei RT wurde *t*Butylmethylether (3 mL) zugegeben, der erhaltene Feststoff abfiltriert, das Filtrat i.V. eingeeengt und der Rückstand mit Petrolether (3x 2 mL) gewaschen. Nach Säulenchromatographie (3 g Silica, CHCl₃/MeOH = 98:2) wurde Carboxamid **179a** als gelbes Öl erhalten (14 mg, 27% über 2 Stufen).

DC: $R_f = 0.07$ (CHCl₃/MeOH = 98:2).

¹H-NMR: 250 MHz, Aceton-d₆; δ = 9.70 (br. s, 1 H, NH), 8.06 (br. s, 1 H, NH_{Boc}), 7.66 (s, 1 H, 5-H), 7.09-7.27 (m, 2 H, 7-H, 8-H), 6.70 (br. s, 1 H, NH₂-H_{2A}), 6.54 (br. s, 1 H, NH₂-H_{2B}), 3.69 (t, $J = 5.9$ Hz, 1 H, 1-H), 2.66 (t, $J = 5.5$ Hz, 2 H, 4-H₂), 2.07-2.21 (m, 3 H, 2-H₂, 3-H_{2A}), 1.70-1.90 (m, 1 H, 3-H_{2B}), 1.50 (s, 9 H, Boc) ppm.

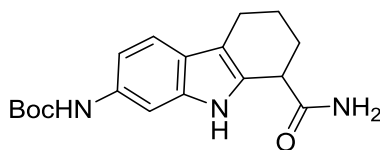
¹³C-NMR: 101 MHz, Aceton-d₆; δ = 175.9 (C=O), 154.3 (C=O_{Boc}), 134.0 (C-8a), 133.5 (C-9a), 132.3 (C-6), 128.4 (C-4b), 115.0 (C-7), 111.6 (C-8), 111.5 (C-4a), 108.7 (C-5), 79.2 (C(CH₃)₃), 42.5 (C-1), 28.7 (C(CH₃)₃), 28.6 (C-2), 22.3 (C-3), 21.6 (C-4) ppm.

HPLC: Methode A; $t_R = 8.19$ min.

HRMS: Ber. für C₁₈H₂₄N₃O₃: 330.1812; gef.: 330.1812.

MS (ESI+): m/z : 330.8 [M+H]⁺.

IR: $\nu = 3256, 2986, 2523, 1690, 1528, 1481, 1157, 1057$ cm⁻¹.

7-N-Boc-1,2,3,4-tetrahydrocarbazol-1-carboxamid**179b**

Unter N₂-Atmosphäre wurde der Ethylester **163b** (158 mg, 0.44 mmol) in entgastem Ethanol (4.4 mL) gelöst und mit entgaster wässriger NaOH-Lösung (1.1 mL, 1 M) versetzt. Nach 4.5 h wurde wässrige HCl-Lösung (1.1 mL, 1 M) sowie Toluol (0.5 mL) zur Reaktionsmischung getropft und die Lösungsmittel i.V. entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in EtOAc (30 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (30 mL) aufgenommen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x 30 mL) reextrahiert. Nach Vereinigen der organischen Extrakte wurden diese mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Die erhaltene Carbonsäure wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion verwendet.

DC: $R_f = 0.26$ (CHCl₃/MeOH = 95:5 + 0.5% HCOOH).

Die oben hergestellte Carbonsäure (8.92 mg, 27.0 μmol) wurde in DMF (70 μL) gelöst und mit Pyridin (1.00 μL, 17.0 μmol), Boc₂O (7.60 μL, 35.0 μmol) sowie NH₄HCO₃ (4.00 mg, 49.0 μmol) versetzt. Nach 18 h bei RT wurden EtOAc (10 mL) und Phosphatpuffer (pH 3, 5 mL) zugegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2x 10 mL) reextrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden mit Na₂SO₄ entwässert und das Lösungsmittel i.V. entfernt. Nach Säulenchromatographie (2 g Silica, CHCl₃/MeOH = 98:2) wurde Carboxamid **179b** als schwach gelbes Glas erhalten (6 mg, 67% über 2 Stufen).

DC: $R_f = 0.11$ (CHCl₃/MeOH = 98:2).

¹H-NMR: 400 MHz, Aceton-d₆; δ = 9.70 (br. s, 1 H, NH), 8.20 (br. s, 1 H, NH_{Boc}), 7.72-7.77 (m, 1 H, 8-H), 7.27 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, 5-H), 7.05 (dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 1 H, 6-H), 6.61-6.72 (m, 1 H, NH₂-H_{2A}), 6.37-6.46 (m, 1 H, NH₂-H_{2B}), 3.67 (t, J = 6.0 Hz, 1 H, 1-H), 2.60-2.72 (m, 2 H, 4-H₂), 2.11-2.22 (m, 2 H, 2-H₂), 1.89-2.00 (m, 1 H, 3-H_{2A}), 1.73-1.89 (m, 1 H, 3-H_{2B}), 1.50 (m, 9 H, Boc) ppm.

¹³C-NMR: 101 MHz, Aceton-d₆; δ = 176.0 (C=O), 154.4 (C=O_{Boc}), 138.2 (C-8a), 135.4 (C-9a), 132.6 (C-7), 124.6 (C-4b), 118.9 (C-6), 112.6 (C-4a), 111.9 (C-5), 102.4 (C-8), 79.8 (C(CH₃)₃), 42.9 (C-1), 29.1 (C(CH₃)₃), 28.9 (C-2), 22.7 (C-3), 22.0 (C-4) ppm.

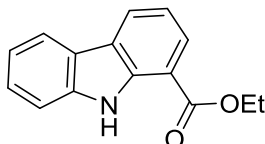
HPLC: Methode I; $t_R = 10.38$ min.

HRMS: Ber. für $C_{18}H_{23}N_3O_3Na$: 352.1632; gef.: 352.1631.

MS (ESI+): m/z : 988.9 $[3M+H]^+$, 659.9 $[2M+H]^+$, 330.7 $[M+H]^+$.

IR: $\nu = 2924, 2507, 1659, 1528, 1458, 1366, 1234, 1157, 1049, 671$ cm^{-1} .

Carbazol-1-carbonsäureethylester



175

Das Tetrahydrocarbazol **170** (175 mg, 0.72 mmol) wurde nach AV8 in 4 h umgesetzt. Durch Abkühlen, abfiltrieren und Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrol-ether/EtOAc = 4:1) wurde Carbazol **175** als farbloser Feststoff erhalten (162 mg, 94%).

DC: $R_f = 0.56$ (Petrolether/EtOAc = 4:1).

1H -NMR: 250 MHz, $CDCl_3$; $\delta = 9.98$ (br. s, 1 H, NH), 8.30 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H, 4-H), 8.13 (dd, $J = 7.9, 0.9$ Hz, 2 H, 2-H, 3-H), 7.39-7.67 (m, 2 H, 5-H, 8-H), 7.13-7.39 (m, 2 H, 6-H, 7-H), 4.53 (q, $J = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H₂), 1.51 (t, $J = 7.1$ Hz, 3 H, 2'-H₃) ppm.

^{13}C -NMR: 63 MHz, $CDCl_3$; $\delta = 168.4$ ($\underline{C}OOEt$), 141.0 (C-8a), 140.6 (C-9a), 128.2 (C-2), 127.4 (C-8), 126.3 (C-4), 125.5 (C-1), 123.4 (C-4b), 121.3 (C-6), 120.8 (C-3), 119.3 (C-7), 112.8 (C-4a), 112.0 (C-5), 61.8 (C-1'), 15.4 (C-2') ppm.

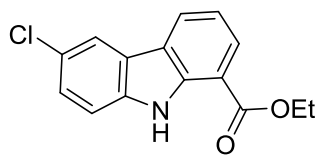
HPLC: Methode F; $t_R = 13.52$ min.

Elementaranalyse: Ber. für $C_{15}H_{13}NO_2$: C 75.30%, H 5.48%, N 5.85%, gef.: C 75.42%, H 5.50%, N 5.82%.

MS (ESI+): m/z : 262.5 $[M+Na]^+$, 240.2 $[M+H]^+$.

IR: $\nu = 3410, 2986, 2484, 1674, 1597, 1304, 1134, 1057$ cm^{-1} .

Smp.: 103.4-103.9 °C.

6-Chloro-carbazol-1-carbonsäureethylester**180**

Tetrahydrocarbazol **165** (200 mg, 0.72 mmol) wurde nach AV8 in 6 h umgesetzt. Durch Abkühlen, Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, 100% EtOAc) und Ausfällen aus heißem MeOH wurde Carbazol **180** als beiger Feststoff erhalten (140 mg, 71%).

DC: $R_f = 0.74$ (Petrolether/EtOAc = 1:4).

$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 9.97$ (br. s, 1 H, NH), 8.23 (d, $J = 7.9$ Hz, 1 H, 4-H), 8.14 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1 H, 2-H), 8.05-8.10 (m, 1 H, 3-H), 7.45 (d, $J = 1.2$ Hz, 2 H, 8-H, 5-H), 7.28-7.33 (m, 1 H, 7-H), 4.53 (q, $J = 7.0$ Hz, 2 H, 1'-H₂), 1.51 (t, $J = 7.0$ Hz, 3 H, 2'-H₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 101 MHz, CDCl_3 ; $\delta = 167.0$ ($\underline{\text{COOEt}}$), 140.4 (C-8a), 137.7 (C-9a), 127.7 (C-2), 126.3 (C-8), 125.3 (C-4), 125.2 (C-1), 123.5 (C-4b), 123.5 (C-6), 119.9 (C-3), 118.5 (C-7), 112.1 (C-4a), 111.7 (C-5), 60.7 (C-1'), 14.1 (C-2') ppm.

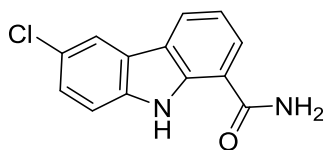
HPLC: Methode I; $t_R = 14.37$ min.

Elementaranalyse: Ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_2\text{ClO}$: C 63.82%, H 3.71%, N 11.45%, Cl 14.49%
gef.: C 63.58%, H 3.74%, N 11.37%, Cl 14.36%.

IR: $\nu = 3387, 2434, 1975, 1674, 1601, 1454, 1304, 1265, 1184, 1153, 1065, 802, 714 \text{ cm}^{-1}$.

Smp.: 135 °C.

6-Chloro-carbazol-1-carboxamid



181

Tetrahydrocarbazol **157** (287 mg, 1.15 mmol) wurde nach AV8 in 16 h umgesetzt. Durch Abkühlen, Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrolether/EtOAc = 1:4) und Ausfällen aus heißem MeOH wurde Carbazol **181** als hellbrauner Feststoff erhalten (86 mg, 30%).

DC: R_f = 0.58 (Petrolether/EtOAc = 1:4).

$^1\text{H-NMR}$: 250 MHz, DMSO- d_6 ; δ = 11.54 (s, 1 H, NH), 8.35 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, 2-H), 8.25 (d, J = 1.9 Hz, 1 H, 5-H), 8.18 (br. s, 1 H, $\text{NH}_2\text{-H}_{2\text{A}}$), 7.98 (d, J = 7.6 Hz, 1 H, 4-H), 7.74 (d, J = 8.7 Hz, 1 H, 8-H), 7.51 (br. s, 1 H, $\text{NH}_2\text{-H}_{2\text{B}}$), 7.41 (dd, J = 8.7, 1.9 Hz, 1 H, 7-H), 7.22 (t, J = 7.6 Hz, 1 H, 3-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 63 MHz, DMSO- d_6 ; δ = 168.9 (C=O), 139.2 (C-8a), 138.6 (C-9a), 125.8 (C-7), 125.4 (C-4), 124.2 (C-2), 123.4 (C-6), 123.1 (C-4b), 122.9 (C-4a), 119.7 (C-5), 118.1 (C-3), 116.2 (C-1), 113.7 (C-8) ppm.

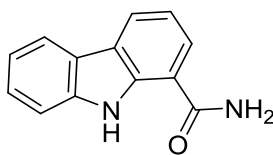
HPLC: Methode I; t_R = 11.23 min.

Elementaranalyse: Ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_2\text{ClO}$: C 63.82%, H 3.71%, N 11.45%, Cl 14.49%
gef.: C 63.58%, H 3.74%, N 11.37%, Cl 14.36%.

MS (ESI+): m/z : 489.1 $[\text{2M+H}]^+$.

IR: ν = 3426, 3333, 3140, 1667, 1597, 1493, 1412, 1331, 1269, 1126, 1080, 795, 748, 633 cm^{-1} .

Smp.: 255 °C.

Carbazol-1-carboxamid**182**

Tetrahydrocarbazol **158** (194 mg, 0.91 mmol) wurde nach AV8 in 4 h umgesetzt. Durch Abkühlen, abfiltrieren und Säulenchromatographie (50 g Kieselgel, Petrol-ether/EtOAc = 1:4) wurde Carbazol **182** als farbloser Feststoff erhalten werden (17 mg, 9%).

DC: $R_f = 0.40$ (Petrolether/EtOAc = 1:4).

$^1\text{H-NMR}$: 300 MHz, DMSO- d_6 ; $\delta = 11.36$ (s, 1 H, NH), 8.29 (d, $J = 7.6$ Hz, 1 H, 2-H), 8.13 (d, $J = 7.7$ Hz, 2 H, 8-H, $\text{NH}_2\text{-H}_{2A}$), 7.94 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H, 4-H), 7.73 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, 5-H), 7.47 (br. s, 1 H, $\text{NH}_2\text{-H}_{2B}$), 7.35-7.43 (m, 1 H, 7-H), 7.11-7.26 (m, 2 H, 3-H, 6-H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$: 63 MHz, DMSO- d_6 ; $\delta = 169.2$ (C=O), 140.2 (C-8a), 138.7 (C-9a), 126.0 (C-7), 124.6 (C-4), 124.0 (C-4b), 123.6 (C-2), 121.5 (C-1), 120.1 (C-8), 119.0 (C-6), 117.7 (C-3), 115.9 (C-4a), 112.1 (C-5) ppm

HPLC: Methode F; $t_R = 10.24$ min.

HRMS. Ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$: 211.0866; gef. 211.0865.

MS (ESI+): m/z : 421.3 $[2\text{M}+\text{H}]^+$, 211.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

IR: $\nu = 3341, 2970, 2507, 1659, 1605 \text{ cm}^{-1}$.

Smp.: 276-280°C.

9 Literaturverzeichnis

- [1] A. Kossel, in *Archiv für Physiologie* (Hrsg.: E.d. Bois-Reymond), Verlag von Veit & Comp, Leipzig, **1891**, 181-186.
- [2] L. Katz, R. H. Baltz, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *43*, 155-176.
- [3] A. L. Demain, A. Fang, in *History of Modern Biotechnology I* (Hrsg.: A. Fiechter), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2000**, 1-39.
- [4] J. Hong, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 10204-10212.
- [5] A. L. Harvey, R. Edrada-Ebel, R. J. Quinn, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2015**, *14*, 111-129.
- [6] E. E. Carlson, *ACS Chem. Biol.* **2010**, *5*, 639-653.
- [7] M. Pucheault, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 424-432.
- [8] K. C. Nicolaou, D. Vourloumis, N. Winssinger, P. S. Baran, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 46-126; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 44-122.
- [9] D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 311-335.
- [10] M. Kibble, N. Saarinen, J. Tang, K. Wennerberg, S. Makela, T. Aittokallio, *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32*, 1249-1266.
- [11] S. P. Gunasekera, M. Gunasekera, R. E. Longley, G. K. Schulte, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4912-4915.
- [12] J. B. Nerenberg, D. T. Hung, P. K. Somers, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12621-12622.
- [13] A. B. Smith, B. S. Freeze, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 261-298.
- [14] G. J. Florence, N. M. Gardner, I. Paterson, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 342-375.
- [15] S. J. Mickel, D. Niederer, R. Daeffler, A. Osmani, E. Kuesters, E. Schmid, K. Schaer, R. Gamboni, W. Chen, E. Loeser, F. R. Kinder, K. Konigsberger, K. Prasad, T. M. Ramsey, O. Repič, R.-M. Wang, G. Florence, I. Lyothier, I. Paterson, *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 122-130.
- [16] S. J. Mickel, G. H. Sedelmeier, D. Niederer, R. Daeffler, A. Osmani, K. Schreiner, M. Seeger-Weibel, B. Bérod, K. Schaer, R. Gamboni, S. Chen, W. Chen, C. T. Jagoe, F. R. Kinder, M. Loo, K. Prasad, O. Repič, W.-C. Shieh, R.-M. Wang, L. Waykole, D. D. Xu, S. Xue, *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 92-100.
- [17] S. J. Mickel, G. H. Sedelmeier, D. Niederer, F. Schuerch, D. Grimler, G. Koch, R. Daeffler, A. Osmani, A. Hirni, K. Schaer, R. Gamboni, A. Bach, A. Chaudhary, S. Chen, W. Chen, B. Hu, C. T. Jagoe, H.-Y. Kim, F. R. Kinder, Y. Liu, Y. Lu, J. McKenna, M. Prashad, T. M. Ramsey, O. Repič, L. Rogers, W.-C. Shieh, R.-M. Wang, L. Waykole, *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 101-106.

- [18] S. J. Mickel, G. H. Sedelmeier, D. Niederer, F. Schuerch, G. Koch, E. Kuesters, R. Daeffler, A. Osmani, M. Seeger-Weibel, E. Schmid, A. Hirni, K. Schaer, R. Gamboni, A. Bach, S. Chen, W. Chen, P. Geng, C. T. Jagoe, F. R. Kinder, G. T. Lee, J. McKenna, T. M. Ramsey, O. Repič, L. Rogers, W.-C. Shieh, R.-M. Wang, L. Waykole, *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 107-112.
- [19] S. J. Mickel, G. H. Sedelmeier, D. Niederer, F. Schuerch, M. Seger, K. Schreiner, R. Daeffler, A. Osmani, D. Bixel, O. Loiseleur, J. Cercus, H. Stettler, K. Schaer, R. Gamboni, A. Bach, G.-P. Chen, W. Chen, P. Geng, G. T. Lee, E. Loeser, J. McKenna, F. R. Kinder, K. Konigsberger, K. Prasad, T. M. Ramsey, N. Reel, O. Repič, L. Rogers, W.-C. Shieh, R.-M. Wang, L. Waykole, S. Xue, G. Florence, I. Paterson, *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 113-121.
- [20] Y. Hirata, D. Uemura, *Pure Appl. Chem.* **1986**, *58*, 701-710.
- [21] T. D. Aicher, K. R. Buszek, F. G. Fang, C. J. Forsyth, S. H. Jung, Y. Kishi, M. C. Matelich, P. M. Scola, D. M. Spero, S. K. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3162-3164.
- [22] B. C. Austad, F. Benayoud, T. L. Calkins, S. Campagna, C. E. Chase, H.-w. Choi, W. Christ, R. Costanzo, J. Cutter, A. Endo, F. G. Fang, Y. Hu, B. M. Lewis, M. D. Lewis, S. McKenna, T. A. Noland, J. D. Orr, M. Pesant, M. J. Schnaderbeck, G. D. Wilkie, T. Abe, N. Asai, Y. Asai, A. Kayano, Y. Kimoto, Y. Komatsu, M. Kubota, H. Kuroda, M. Mizuno, T. Nakamura, T. Omae, N. Ozeki, T. Suzuki, T. Takigawa, T. Watanabe, K. Yoshizawa, *Synlett* **2013**, *24*, 327-332.
- [23] B. C. Austad, T. L. Calkins, C. E. Chase, F. G. Fang, T. E. Horstmann, Y. Hu, B. M. Lewis, X. Niu, T. A. Noland, J. D. Orr, M. J. Schnaderbeck, H. Zhang, N. Asakawa, N. Asai, H. Chiba, T. Hasebe, Y. Hoshino, H. Ishizuka, T. Kajima, A. Kayano, Y. Komatsu, M. Kubota, H. Kuroda, M. Miyazawa, K. Tagami, T. Watanabe, *Synlett* **2013**, *24*, 333-337.
- [24] C. E. Chase, F. G. Fang, B. M. Lewis, G. D. Wilkie, M. J. Schnaderbeck, X. Zhu, *Synlett* **2013**, *24*, 323-326.
- [25] M. J. Yu, W. Zheng, B. M. Seletsky, *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30*, 1158-1164.
- [26] D. L. Boger, S. Miyazaki, S. H. Kim, J. H. Wu, S. L. Castle, O. Loiseleur, Q. Jin, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10004-10011.
- [27] J. Xie, J. G. Pierce, R. C. James, A. Okano, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13946-13949.
- [28] T. P. Pathak, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 8415-8422.

-
- [29] J. Hong, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, *15*, 350-354.
- [30] H. Itazaki, K. Nagashima, K. Sugita, H. Yoshida, Y. Kawamura, Y. Yasuda, K. Matsumoto, K. Ishi, N. Uotani, H. Nakai, A. Terui, S. Yoshimitsu, Y. Ikenishi, Y. Nakagawa, *J. Antibiot. (Tokio)* **1990**, *43*, 1524-1532.
- [31] J. Taunton, J. L. Collins, S. L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10412-10422.
- [32] J. Taunton, C. A. Hassig, S. L. Schreiber, *Science* **1996**, *272*, 408-411.
- [33] N. Lindquist, W. Fenical, G. D. Van Duyne, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2303-2304.
- [34] A. W. G. Burgett, Q. Li, Q. Wei, P. G. Harran, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5111-5116; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4961-4966.
- [35] N. S. Williams, A. W. G. Burgett, A. S. Atkins, X. Wang, P. G. Harran, S. L. McKnight, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 2074-2079.
- [36] G. Wang, L. Shang, A. W. G. Burgett, P. G. Harran, X. Wang, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 2068-2073.
- [37] S. Nikolaus, *Curr. Drug Targets* **2000**, *1*, 119-154.
- [38] L. C. Brody, G. A. Mitchell, C. Obie, J. Michaud, G. Steel, G. Fontaine, M. F. Robert, I. Sipila, M. Kaiser-Kupfer, D. Valle, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 3302-3307.
- [39] T. Wang, A. M. Lawler, G. Steel, I. Sipila, A. H. Milam, D. Valle, *Nat. Genet.* **1995**, *11*, 185-190.
- [40] Y. Hamada, M. Shibata, T. Shioiri, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5155-5158.
- [41] C. D. J. Boden, G. Pattenden, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 875-882.
- [42] M. A. Skinnider, C. W. Johnston, R. E. Edgar, C. A. Dejong, N. J. Merwin, P. N. Rees, N. A. Magarvey, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2016**.
- [43] C. L. Cox, J. R. Doroghazi, D. A. Mitchell, *BMC Genomics* **2015**, *16*, 1-16.
- [44] K. Sivonen, N. Leikoski, D. P. Fewer, J. Jokela, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *86*, 1213-1225.
- [45] C. Ireland, P. J. Scheuer, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5688-5691.
- [46] E. W. Schmidt, J. T. Nelson, D. A. Rasko, S. Sudek, J. A. Eisen, M. G. Haygood, J. Ravel, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 7315-7320.
- [47] M. S. Donia, B. J. Hathaway, S. Sudek, M. G. Haygood, M. J. Rosovitz, J. Ravel, E. W. Schmidt, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 729-735.
- [48] M. S. Donia, J. Ravel, E. W. Schmidt, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 341-343.
- [49] P. F. Long, W. C. Dunlap, C. N. Battershill, M. Jaspars, *Chem. Bio. Chem.* **2005**, *6*, 1760-1765.

- [50] P. G. Arnison, M. J. Bibb, G. Bierbaum, A. A. Bowers, T. S. Bugni, G. Bulaj, J. A. Camarero, D. J. Campopiano, G. L. Challis, J. Clardy, P. D. Cotter, D. J. Craik, M. Dawson, E. Dittmann, S. Donadio, P. C. Dorrestein, K.-D. Entian, M. A. Fischbach, J. S. Garavelli, U. Göransson, C. W. Gruber, D. H. Haft, T. K. Hemscheidt, C. Hertweck, C. Hill, A. R. Horswill, M. Jaspars, W. L. Kelly, J. P. Klinman, O. P. Kuipers, A. J. Link, W. Liu, M. A. Marahiel, D. A. Mitchell, G. N. Moll, B. S. Moore, R. Müller, S. K. Nair, I. F. Nes, G. E. Norris, B. M. Olivera, H. Onaka, M. L. Patchett, J. Piel, M. J. T. Reaney, S. Rebuffat, R. P. Ross, H.-G. Sahl, E. W. Schmidt, M. E. Selsted, K. Severinov, B. Shen, K. Sivonen, L. Smith, T. Stein, R. D. Süßmuth, J. R. Tagg, G.-L. Tang, A. W. Truman, J. C. Vederas, C. T. Walsh, J. D. Walton, S. C. Wenzel, J. M. Willey, W. A. van der Donk, *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30*, 108-160.
- [51] C. M. Ireland, A. R. Durso, R. A. Newman, M. P. Hacker, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1807-1811.
- [52] B. M. Degnan, C. J. Hawkins, M. F. Lavin, E. J. McCaffrey, D. L. Parry, A. L. Van den Brenk, D. J. Watters, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1349-1354.
- [53] F. J. Schmitz, M. B. Ksebati, J. S. Chang, J. L. Wang, M. B. Hossain, D. Van der Helm, M. H. Engel, A. Serban, J. A. Silfer, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3463-3472.
- [54] K. Ishida, H. Nakagawa, M. Murakami, *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1315-1317.
- [55] N. Leikoski, D. P. Fewer, J. Jokela, M. Wahlsten, L. Rouhiainen, K. Sivonen, *Appl. Environ. Microbiol.* **2010**, *76*, 701-709.
- [56] M. Jaspars, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 10174-10176.
- [57] T. Ishida, M. Inoue, Y. Hamada, S. Kato, T. Shioiri, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 370-371.
- [58] C. Portmann, J. F. Blom, K. Gademann, F. Jüttner, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1193-1196.
- [59] C. Portmann, J. F. Blom, M. Kaiser, R. Brun, F. Jüttner, K. Gademann, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1891-1896.
- [60] E. W. Schmidt, M. S. Donia, in *Methods Enzymol.*, Vol. 458, Academic Press, **2009**, 575-596.
- [61] J. Martins, V. Vasconcelos, *Mar. Drugs* **2015**, *13*, 6910.
- [62] N. Leikoski, L. Liu, J. Jokela, M. Wahlsten, M. Gugger, A. Calteau, P. Permi, Cheryl A. Kerfeld, K. Sivonen, David P. Fewer, *Chem. Biol.* **2013**, *20*, 1033-1043.
- [63] V. Agarwal, E. Pierce, J. McIntosh, Eric W. Schmidt, Satish K. Nair, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 1411-1422.

-
- [64] J. Koehnke, A. Bent, W. E. Houssen, D. Zollman, F. Morawitz, S. Shirran, J. Vendome, A. F. Nneoyiegbe, L. Trembleau, C. H. Botting, M. C. M. Smith, M. Jaspars, J. H. Naismith, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2012**, *19*, 767-772.
- [65] M. Montalbán-López, M. Sánchez-Hidalgo, R. Cebrián, M. Maqueda, *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 27007-27013.
- [66] M. S. Donia, E. W. Schmidt, in *Comprehensive Natural Products II*, Elsevier, Oxford, **2010**, 539-558.
- [67] J. A. McIntosh, M. S. Donia, E. W. Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4089-4091.
- [68] J. A. McIntosh, E. W. Schmidt, *Chem. Bio. Chem.* **2010**, *11*, 1413-1421.
- [69] W. E. Houssen, S. H. Wright, A. P. Kalverda, G. S. Thompson, S. M. Kelly, M. Jaspars, *Chem. Bio. Chem.* **2010**, *11*, 1867-1873.
- [70] D. Sardar, E. Pierce, J. A. McIntosh, E. W. Schmidt, *ACS Synth. Biol.* **2015**, *4*, 167-176.
- [71] M. S. Donia, E. W. Schmidt, *Chem Biol* **2011**, *18*, 508-519.
- [72] J. A. McIntosh, M. S. Donia, S. K. Nair, E. W. Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13698-13705.
- [73] J. A. McIntosh, M. S. Donia, E. W. Schmidt, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 537-559.
- [74] J. Koehnke, A. F. Bent, W. E. Houssen, G. Mann, M. Jaspars, J. H. Naismith, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2014**, *29*, 112-121.
- [75] B. F. Milne, P. F. Long, A. Starcevic, D. Hranueli, M. Jaspars, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 631-638.
- [76] T. Katoh, Y. Goto, M. S. Reza, H. Suga, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9946-9958.
- [77] N. Leikoski, D. P. Fewer, K. Sivonen, *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75*, 853-857.
- [78] P. M. Shih, D. Wu, A. Latifi, S. D. Axen, D. P. Fewer, E. Talla, A. Calteau, F. Cai, N. Tandeau de Marsac, R. Rippka, M. Herdman, K. Sivonen, T. Coursin, T. Laurent, L. Goodwin, M. Nolan, K. W. Davenport, C. S. Han, E. M. Rubin, J. A. Eisen, T. Woyke, M. Gugger, C. A. Kerfeld, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 1053-1058.
- [79] J. M. Wasylyk, J. E. Biskupiak, C. E. Costello, C. M. Ireland, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4445-4449.
- [80] Y. Hamamoto, M. Endo, M. Nakagawa, T. Nakanishi, K. Mizukawa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 323-324.
- [81] D. E. Williams, R. E. Moore, V. J. Paul, *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 732-739.

- [82] M. A. Rashid, K. R. Gustafson, J. H. Cardellina, M. R. Boyd, *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 594-597.
- [83] T. Shioiri, Y. Hamada, S. Kato, M. Shibata, Y. Kondo, H. Nakagawa, K. Kohda, *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36*, 4181-4185.
- [84] K. Kohfuku, O. Yuko, Y. Yumi, K. Yutaka, K. Taketoshi, S. Yasuko, H. Yasumasa, S. Takayuki, *Biochem. Pharmacol.* **1989**, *38*, 4497-4500.
- [85] X. Fu, T. Do, F. J. Schmitz, V. Andrushevich, M. H. Engel, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1547-1551.
- [86] J. Ogino, R. E. Moore, G. M. L. Patterson, C. D. Smith, *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 581-586.
- [87] R. G. Linington, J. González, L.-D. Ureña, L. I. Romero, E. Ortega-Barría, W. H. Gerwick, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 397-401.
- [88] K. Ishida, H. Matsuda, M. Murakami, K. Yamaguchi, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 724-726.
- [89] M. R. Boyd, K. R. Gustafson, J. B. McMahon, R. H. Shoemaker, B. R. O'Keefe, T. Mori, R. J. Gulakowski, L. Wu, M. I. Rivera, C. M. Laurencot, M. J. Currens, J. H. Cardellina, R. W. Buckheit, P. L. Nara, L. K. Pannell, R. C. Sowder, L. E. Henderson, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 1521-1530.
- [90] H. R. Bokesch, B. R. O'Keefe, T. C. McKee, L. K. Pannell, G. M. L. Patterson, R. S. Gardella, R. C. Sowder, J. Turpin, K. Watson, R. W. Buckheit, M. R. Boyd, *Biochem.* **2003**, *42*, 2578-2584.
- [91] D. Hernández, M. Altuna, C. Cuevas, R. Aligué, F. Albericio, M. Álvarez, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5722-5730.
- [92] Y. Matsuo, K. Kanoh, H. Imagawa, K. Adachi, M. Nishizawa, Y. Shizuri, *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 256-260.
- [93] X. Zhou, H. Huang, Y. Chen, J. Tan, Y. Song, J. Zou, X. Tian, Y. Hua, J. Ju, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 2251-2255.
- [94] K. Shin-ya, K. Wierzba, K.-i. Matsuo, T. Ohtani, Y. Yamada, K. Furihata, Y. Hayakawa, H. Seto, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1262-1263.
- [95] T. Doi, M. Yoshida, K. Shin-ya, T. Takahashi, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4165-4167.
- [96] H. Huang, Y. Yao, Z. He, T. Yang, J. Ma, X. Tian, Y. Li, C. Huang, X. Chen, W. Li, S. Zhang, C. Zhang, J. Ju, *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 2122-2127.
- [97] K.-y. Sohda, M. Hiramoto, K.-i. Suzumura, Y. Takebayashi, K.-i. Suzuki, A. Tanaka, *J. Antibiot.* **2005**, *58*, 32-36.

-
- [98] K.-y. Sohda, K. Nagai, T. Yamori, K.-i. Suzuki, A. Tanaka, *J. Antibiot.* **2005**, *58*, 27-31.
- [99] K. Kanoh, Y. Matsuo, K. Adachi, H. Imagawa, M. Nishizawa, Y. Shizuri, *J. Antibiot.* **2005**, *58*, 289-292.
- [100] Y. Matsuo, K. Kanoh, T. Yamori, H. Kasai, A. Katsuta, K. Adachi, K. Shin-ya, Y. Shizuri, *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 251-255.
- [101] W. Liu, D. Sun, L. H. Hurley, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2005**, *24*, 1801-1815.
- [102] M. Sumi, T. Tauchi, G. Sashida, A. Nakajima, A. Gotoh, K. Shin-Ya, J. Ohyashiki, K. Ohyashiki, *Int. J. Oncol.* **2004**, *24*, 1481-1488.
- [103] T. Tauchi, K. Shin-Ya, G. Sashida, M. Sumi, S. Okabe, J. Ohyashiki, K. Ohyashiki, *Oncogene* **2006**, *25*, 5719-5725.
- [104] H. Tahara, K. Shin-Ya, H. Seimiya, H. Yamada, T. Tsuruo, T. Ide, *Oncogene* **2006**, *25*, 1955-1966.
- [105] D. Gomez, T. Wenner, B. Brassart, C. Douarre, M.-F. O'Donohue, V. El Khoury, K. Shin-ya, H. Morjani, C. Trentesaux, J.-F. Riou, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 38721-38729.
- [106] D. Gomez, M.-F. O'Donohue, T. Wenner, C. Douarre, J. Macadré, P. Koebel, M.-J. Giraud-Panis, H. Kaplan, A. Kolkes, K. Shin-ya, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 6908-6912.
- [107] M. A. Shammas, R. J. S. Reis, C. Li, H. Koley, L. H. Hurley, K. C. Anderson, N. C. Munshi, *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 770-776.
- [108] N. Binz, T. Shalaby, P. Rivera, K. Shin-Ya, M. Grotzer, *Eur. J. Cancer* **2005**, *41*, 2873-2881.
- [109] T. Miyazaki, Y. Pan, K. Joshi, D. Purohit, B. Hu, H. Demir, S. Mazumder, S. Okabe, T. Yamori, M. Viapiano, K. Shin-ya, H. Seimiya, I. Nakano, *Clin. Cancer Res.* **2012**, *18*, 1268-1280.
- [110] E. P. Calvo, M. Wasserman, *Mol. Biochem. Parasitol.* **2016**, *207*, 33-38.
- [111] Y. Zhang, M. A. Islam, S. R. McAlpine, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5149-5151.
- [112] T. Yamori, A. Matsunaga, S. Sato, K. Yamazaki, A. Komi, K. Ishizu, I. Mita, H. Edatsugi, Y. Matsuba, K. Takezawa, O. Nakanishi, H. Kohno, Y. Nakajima, H. Komatsu, T. Andoh, T. Tsuruo, *Cancer Res.* **1999**, *59*, 4042-4049.
- [113] D. Hernández, G. Vilar, E. Riego, L. M. Cañedo, C. Cuevas, F. Albericio, M. Álvarez, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 809-811.

- [114] M.-Y. Kim, H. Vankayalapati, K. Shin-ya, K. Wierzba, L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2098-2099.
- [115] D. Gomez, R. Paterski, T. Lemarteleur, K. Shin-ya, J.-L. Mergny, J.-F. Riou, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 41487-41494.
- [116] C. Shan, J.-H. Tan, T.-M. Ou, Z.-S. Huang, *Sci. China Chem.* **2013**, *56*, 1351-1363.
- [117] K. Guo, A. Pourpak, K. Beetz-Rogers, V. Gokhale, D. Sun, L. H. Hurley, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 10220-10228.
- [118] M. M. Ouellette, K. Lee, *Drug Discovery Today* **2001**, *6*, 1231-1237.
- [119] H. J. Lipps, D. Rhodes, *Trends Cell Biol.*, *19*, 414-422.
- [120] Y. Deng, S. S. Chan, S. Chang, *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8*, 450-458.
- [121] T. Lemarteleur, D. Gomez, R. Paterski, E. Mandine, P. Mailliet, J.-F. Riou, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *323*, 802-808.
- [122] S. D. Patel, M. Isalan, G. Gavory, S. Ladame, Y. Choo, S. Balasubramanian, *Biochem.* **2004**, *43*, 13452-13458.
- [123] D. Monchaud, A. Granzhan, N. Saettel, A. Gudin, J.-L. Mergny, M.-P. Teulade-Fichou, *J. Nucleic Acids* **2010**, *2010*.
- [124] A. De Cian, G. Cristofari, P. Reichenbach, E. De Lemos, D. Monchaud, M.-P. Teulade-Fichou, K. Shin-ya, L. Lacroix, J. Lingner, J.-L. Mergny, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 17347-17352.
- [125] D. Hasegawa, S. Okabe, K. Okamoto, I. Nakano, K. Shin-ya, H. Seimiya, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2016**, *471*, 75-81.
- [126] P. Martínez, M. A. Blasco, *Trends Biochem. Sci.* **2015**, *40*, 504-515.
- [127] P. Loos, Dissertation, FSU Jena, **2013**.
- [128] X.-H. Jian, H.-X. Pan, T.-T. Ning, Y.-Y. Shi, Y.-S. Chen, Y. Li, X.-W. Zeng, J. Xu, G.-L. Tang, *ACS Chem. Biol.* **2012**, *7*, 646-651.
- [129] S. W. Lee, D. A. Mitchell, A. L. Markley, M. E. Hensler, D. Gonzalez, A. Wohlrab, P. C. Dorrestein, V. Nizet, J. E. Dixon, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 5879-5884.
- [130] J. C. Milne, A. C. Eliot, N. L. Kelleher, C. T. Walsh, *Biochem.* **1998**, *37*, 13250-13261.
- [131] T. L. Schneider, B. Shen, C. T. Walsh, *Biochem.* **2003**, *42*, 9722-9730.
- [132] L. Du, M. Chen, Y. Zhang, B. Shen, *Biochem.* **2003**, *42*, 9731-9740.
- [133] J. C. Milne, R. S. Roy, A. C. Eliot, N. L. Kelleher, A. Wokhlu, B. Nickels, C. T. Walsh, *Biochem.* **1999**, *38*, 4768-4781.

-
- [134] C. P. Scott, E. Abel-Santos, A. D. Jones, S. J. Benkovic, *Chem. Biol.* **2001**, 8, 801-815.
- [135] B. Zacharie, G. Sauvé, C. Penney, *Tetrahedron* **1993**, 49, 10489-10500.
- [136] P. Wipf, P. C. Fritch, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 5397-5400.
- [137] K. T. Nobuaki Endoh, Riyong Kim, Yasuchika Yonezawa, Chung-gi Shin, *Heterocycles* **2003**, 60, 1567-1572.
- [138] S.-L. You, H. Razavi, J. W. Kelly, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 87-89; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 83-85.
- [139] C.-C. Lin, W. Tantisantisom, S. R. McAlpine, *Org. Lett.* **2013**, 15, 3574-3577.
- [140] S. Kim, S. McAlpine, *Molecules* **2013**, 18, 1111.
- [141] C.-M. Pan, C.-C. Lin, S. J. Kim, R. P. Sellers, S. R. McAlpine, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 4065-4069.
- [142] S. K. Chattopadhyay, S. K. Singha, *Synlett* **2010**, 2010, 555-558.
- [143] J. Deeley, G. Pattenden, *Chem. Commun.* **2005**, 797-799.
- [144] C.-M. Pan, Dissertation, UC San Diego, **2012**.
- [145] N. A. McDonald, W. L. Jorgensen, *J. Phys. Chem. B* **1998**, 102, 8049-8059.
- [146] S. F. Bone, B. A. Smart, H. Gierens, C. A. Morrison, P. T. Brain, D. W. H. Rankin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, 1, 2421-2426.
- [147] M. S. Seyfried, J. Alzeer, N. W. Luedtke, *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 2016, 367-372.
- [148] D. Yoo, J. S. Oh, D.-W. Lee, Y. G. Kim, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 2979-2982.
- [149] A. J. Phillips, Y. Uto, P. Wipf, M. J. Reno, D. R. Williams, *Org. Lett.* **2000**, 2, 1165-1168.
- [150] P. Loos, C. Ronco, M. Riedrich, H.-D. Arndt, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 2013, 3290-3315.
- [151] J. Rudolph, H. Theis, R. Hanke, R. Endermann, L. Johannsen, F.-U. Geschke, *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 619-626.
- [152] K. R. West, K. D. Bake, S. Otto, *Org. Lett.* **2005**, 7, 2615-2618.
- [153] M. Brensing, Forschungspraktikum, FSU Jena, **2014**.
- [154] D. R. Williams, P. D. Lowder, Y.-G. Gu, D. A. Brooks, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 331-334.
- [155] K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron* **1978**, 34, 1651-1660.
- [156] J. R. Parikh, W. v. E. Doering, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 5505-5507.
- [157] J. D. More, N. S. Finney, *Org. Lett.* **2002**, 4, 3001-3003.
- [158] D. B. Dess, J. C. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 7277-7287.

- [159] E. A. Braude, R. P. Linstead, K. R. Wooldridge, *J. Chem. Soc.* **1956**, 3070-3074.
- [160] O. Zumann, Forschungspraktikum, FSU Jena, **2016**.
- [161] B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556-557; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 522-524.
- [162] M. Riedrich, Dissertation, MPI für molekulare Physiologie, Dortmund, **2009**.
- [163] M. Dessolin, M.-G. Guillerez, N. Thieriet, F. Guibé, A. Loffet, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5741-5744.
- [164] R. L. Harding, T. D. H. Bugg, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2729-2731.
- [165] D. A. Pearson, M. Blanchette, M. L. Baker, C. A. Guindon, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2739-2742.
- [166] X. Guinchard, Y. Vallée, J.-N. Denis, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3972-3975.
- [167] D. E. Ryono, J. J. Hangeland, T. J. Friends, T. Dejneka, P. Devasthale, Y. V. Caringal, M. Zhang, A. M. P. Doweyko, J. Malm, A. Sanin, **2010**.
- [168] J. C. Namyslo, J. C. Namyslo, D. E. Kaufmann, *Synlett* **1999**, *1999*, 114-116.
- [169] Y. Wu, X. Liao, R. Wang, X.-S. Xie, J. K. De Brabander, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3245-3253.
- [170] S.-M. Paek, H. Yun, N.-J. Kim, J.-W. Jung, D.-J. Chang, S. Lee, J. Yoo, H.-J. Park, Y.-G. Suh, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 554-561.
- [171] C. Basmadjian, Q. Zhao, A. Djehal, E. Bentouhami, C. G. Nebigil, R. A. Johnson, M. Serova, A. De Gramont, S. Faivre, E. Raymond, L. G. Désaubry, *Front. Chem.* **2014**, *2*, 1-18.
- [172] H. Zhao, G. Zong, J. Zhang, D. Wang, X. Liang, *Molecules* **2011**, *16*, 1113.
- [173] R. G. Hiskey, J. B. Adams, *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 2178-2183.
- [174] X. Li, C. Li, B. Yin, C. Li, P. Liu, J. Li, Z. Shi, *Chem. Asian J.* **2013**, *8*, 1408-1411.
- [175] S. C. Nigama, A. Mann, M. Taddei, C.-G. Wermutha, *Synth. Commun.* **1989**, *19*, 3139-3142.
- [176] M. Seki, K. Kondo, T. Kuroda, T. Yamanaka, T. Iwasaki, *Synlett* **1995**, *1995*, 609-611.
- [177] H. Sai, T. Ogiku, H. Ohmizu, *Synth.* **2003**, *2003*, 201-204.
- [178] A. S. Abreu, E. M. S. Castanheira, P. M. T. Ferreira, L. S. Monteiro, G. Pereira, M.-J. R. P. Queiroz, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 5697-5703.
- [179] H. Liu, E. J. Thomas, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3150-3153.
- [180] V. S. Aulakh, M. A. Ciufolini, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5900-5904.
- [181] J.-Y. Lu, M. Riedrich, K. P. Wojtas, H.-D. Arndt, *Synth.* **2013**, *45*, 1300-1311.

-
- [182] K. C. Nicolaou, Q.-Y. Toh, D. Y. K. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11292-11293.
- [183] M. Hashimoto, T. Murakami, K. Funahashi, T. Tokunaga, K.-i. Nihei, T. Okuno, T. Kimura, H. Naoki, H. Himeno, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8259-8270.
- [184] K. T. Howitz, K. J. Bitterman, H. Y. Cohen, D. W. Lamming, S. Lavu, J. G. Wood, R. E. Zipkin, P. Chung, A. Kisielewski, L.-L. Zhang, B. Scherer, D. A. Sinclair, *Nature* **2003**, *425*, 191-196.
- [185] T. Kouzarides, *EMBO J.* **2000**, *19*, 1176-1179.
- [186] H.-C. Chang, L. Guarente, *Trends Endocrinol. Metab.* **2014**, *25*, 138-145.
- [187] D. Rauh, F. Fischer, M. Gertz, M. Lakshminarasimhan, T. Bergbrede, F. Aladini, C. Kambach, C. F. Becker, J. Zerweck, M. Schutkowski, *Nature Commun.* **2013**, *4*.
- [188] A. Norvell, S. B. McMahon, *Science* **2010**, *327*, 964-965.
- [189] M. J. Rardin, J. C. Newman, J. M. Held, M. P. Cusack, D. J. Sorensen, B. Li, B. Schilling, S. D. Mooney, C. R. Kahn, E. Verdin, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 6601-6606.
- [190] A. J. Still, B. J. Floyd, A. S. Hebert, C. A. Bingman, J. J. Carson, D. R. Gunderson, B. K. Dolan, P. A. Grimsrud, K. E. Dittenhafer-Reed, D. S. Stapleton, *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 26209-26219.
- [191] S. C. Kim, R. Sprung, Y. Chen, Y. Xu, H. Ball, J. Pei, T. Cheng, Y. Kho, H. Xiao, L. Xiao, N. V. Grishin, M. White, X.-J. Yang, Y. Zhao, *Mol. Cell* **2006**, *23*, 607-618.
- [192] N. Poulouse, R. Raju, *Biochim. Biophys. Acta - Molecular Basis of Disease* **2015**, *1852*, 2442-2455.
- [193] R. H. Houtkooper, C. Cantó, R. J. Wanders, J. Auwerx, *Endocr. Rev.* **2010**, *31*, 194-223.
- [194] S.-i. Imai, C. M. Armstrong, M. Kaeberlein, L. Guarente, *Nature* **2000**, *403*, 795-800.
- [195] C. B. Brachmann, J. M. Sherman, S. E. Devine, E. E. Cameron, L. Pillus, J. D. Boeke, *Genes Dev.* **1995**, *9*, 2888-2902.
- [196] M. Kaeberlein, M. McVey, L. Guarente, *Genes Dev.* **1999**, *13*, 2570-2580.
- [197] J. D. Covington, S. Bajpeyi, *Mol. Nutr. Food Res.* **2016**, *60*, 79-91.
- [198] R. A. Frye, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *273*, 793-798.
- [199] J. S. Smith, C. B. Brachmann, I. Celic, M. A. Kenna, S. Muhammad, V. J. Starai, J. L. Avalos, J. C. Escalante-Semerena, C. Grubmeyer, C. Wolberger, J. D. Boeke, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 6658-6663.
- [200] T. Nakagawa, L. Guarente, *J. Cell Sci.* **2011**, *124*, 833-838.

- [201] J. M. Ivy, J. B. Hicks, A. J. S. Klar, *Genetics* **1985**, *111*, 735-744.
- [202] J. M. Ivy, A. J. Klar, J. B. Hicks, *Mol. Cell. Biol.* **1986**, *6*, 688-702.
- [203] A. J. S. Klar, S. Fogel, K. Macleod, *Genetics* **1979**, *93*, 37-50.
- [204] S. Kong, M. W. McBurney, D. Fang, *Immunol. Cell Biol.* **2012**, *90*, 6-13.
- [205] S. Michan, D. Sinclair, *Biochem. J.* **2007**, *404*, 1-13.
- [206] C. V. Pereira, M. Lebedzinska, M. R. Wieckowski, P. J. Oliveira, *Mitochondrion* **2012**, *12*, 66-76.
- [207] M. Gertz, F. Fischer, G. T. T. Nguyen, M. Lakshminarasimhan, M. Schutkowski, M. Weyand, C. Steegborn, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, E2772-E2781.
- [208] B. R. Webster, Z. Lu, M. N. Sack, I. Scott, *Free Radical Biol. Med.* **2012**, *52*, 281-290.
- [209] T. Y. Alhazzazi, P. Kamarajan, N. Joo, J.-Y. Huang, E. Verdin, N. J. D'Silva, Y. L. Kapila, *Cancer* **2011**, *117*, 1670-1678.
- [210] T. Y. Alhazzazi, P. Kamarajan, E. Verdin, Y. L. Kapila, *Biochim. Biophys. Acta, Rev. Cancer* **2011**, *1816*, 80-88.
- [211] J. Fu, J. Jin, R. H. Cichewicz, S. A. Hageman, T. K. Ellis, L. Xiang, Q. Peng, M. Jiang, N. Arbez, K. Hotaling, C. A. Ross, W. Duan, *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 24460-24472.
- [212] M. C. Haigis, D. A. Sinclair, *Annu. Rev. Pathol.* **2010**, *5*, 253-295.
- [213] G. Liszt, E. Ford, M. Kurtev, L. Guarente, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 21313-21320.
- [214] E. Michishita, R. A. McCord, E. Berber, M. Kioi, H. Padilla-Nash, M. Damian, P. Cheung, R. Kusumoto, T. L. A. Kawahara, J. C. Barrett, H. Y. Chang, V. A. Bohr, T. Ried, O. Gozani, K. F. Chua, *Nature* **2008**, *452*, 492-496.
- [215] T. Zhang, W. L. Kraus, *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **2010**, *1804*, 1666-1675.
- [216] A. Vaquero, M. Scher, D. Lee, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, D. Reinberg, *Mol. Cell* **2004**, *16*, 93-105.
- [217] A. Vaquero, R. Sternglanz, D. Reinberg, *Oncogene* **2005**, *26*, 5505-5520.
- [218] E. Michishita, J. Y. Park, J. M. Burneskis, J. C. Barrett, I. Horikawa, *Mol. Biol. Cell* **2005**, *16*, 4623-4635.
- [219] M. W. McBurney, X. Yang, K. Jardine, M. Hixon, K. Boekelheide, J. R. Webb, P. M. Lansdorp, M. Lemieux, *Mol. Cell. Biol.* **2003**, *23*, 38-54.
- [220] H.-L. Cheng, R. Mostoslavsky, S. i. Saito, J. P. Manis, Y. Gu, P. Patel, R. Bronson, E. Appella, F. W. Alt, K. F. Chua, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 10794-10799.

-
- [221] M. Fulco, R. L. Schiltz, S. Iezzi, M. T. King, P. Zhao, Y. Kashiwaya, E. Hoffman, R. L. Veech, V. Sartorelli, *Mol. Cell* **2003**, *12*, 51-62.
- [222] M. Lagouge, C. Argmann, Z. Gerhart-Hines, H. Meziane, C. Lerin, F. Daussin, N. Messadeq, J. Milne, P. Lambert, P. Elliott, B. Geny, M. Laakso, P. Puigserver, J. Auwerx, *Cell* **2006**, *127*, 1109-1122.
- [223] J. T. Rodgers, C. Lerin, W. Haas, S. P. Gygi, B. M. Spiegelman, P. Puigserver, *Nature* **2005**, *434*, 113-118.
- [224] Z. Gerhart-Hines, J. T. Rodgers, O. Bare, C. Lerin, S. H. Kim, R. Mostoslavsky, F. W. Alt, Z. Wu, P. Puigserver, *EMBO J.* **2007**, *26*, 1913-1923.
- [225] K. Harting, B. Knöll, *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 262-269.
- [226] B. J. North, B. L. Marshall, M. T. Borra, J. M. Denu, E. Verdin, *Mol. Cell* **2003**, *11*, 437-444.
- [227] W. Li, B. Zhang, J. Tang, Q. Cao, Y. Wu, C. Wu, J. Guo, E.-A. Ling, F. Liang, *J. Neurosci.* **2007**, *27*, 2606-2616.
- [228] J. C. Black, A. Mosley, T. Kitada, M. Washburn, M. Carey, *Mol. Cell* **2008**, *32*, 449-455.
- [229] A. Vaquero, M. B. Scher, D. H. Lee, A. Sutton, H.-L. Cheng, F. W. Alt, L. Serrano, R. Sternglanz, D. Reinberg, *Genes Dev.* **2006**, *20*, 1256-1261.
- [230] B. J. North, E. Verdin, *PLoS One* **2007**, *2*, e784.
- [231] R. Mostoslavsky, M. Esteller, A. Vaquero, *Cell Cycle* **2010**, *9*, 1907-1912.
- [232] T. Inoue, M. Hiratsuka, M. Osaki, M. Oshimura, *Cell Cycle* **2007**, *6*, 1011-1018.
- [233] B. L. Tang, C. E. L. Chua, *Cell Motil. Cytoskeleton* **2008**, *65*, 179-182.
- [234] S. C. Dryden, F. A. Nahhas, J. E. Nowak, A.-S. Goustin, M. A. Tainsky, *Mol. Cell. Biol.* **2003**, *23*, 3173-3185.
- [235] G. Ramakrishnan, G. Davaakhuu, L. Kaplun, W.-C. Chung, A. Rana, A. Atfi, L. Miele, G. Tzivion, *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 6054-6066.
- [236] P. Gomes, T. Fleming Outeiro, C. Cavadas, *Trends Pharmacol. Sci.* **2015**, *36*, 756-768.
- [237] D. B. Lombard, F. W. Alt, H.-L. Cheng, J. Bunkenborg, R. S. Streeper, R. Mostoslavsky, J. Kim, G. Yancopoulos, D. Valenzuela, A. Murphy, Y. Yang, Y. Chen, M. D. Hirschey, R. T. Bronson, M. Haigis, L. P. Guarente, R. V. Farese, S. Weissman, E. Verdin, B. Schwer, *Mol. Cell. Biol.* **2007**, *27*, 8807-8814.
- [238] A. Giralt, F. Villarroja, *Biochem. J.* **2012**, *444*, 1-10.

- [239] M. Correia, T. Perestrelo, A. S. Rodrigues, M. F. Ribeiro, S. L. Pereira, M. I. Sousa, J. Ramalho-Santos, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Sub.* **2016**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.1009.1008>.
- [240] A. V. Hafner, J. Dai, A. P. Gomes, C. Y. Xiao, K. C. M. Palmeira, A. Rosenzweig, D. A. Sinclair, *Aging* **2010**, 2, 914-923.
- [241] T. Shi, F. Wang, E. Stieren, Q. Tong, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 13560-13567.
- [242] A. Ansari, M. S. Rahman, S. K. Saha, F. K. Saikot, A. Deep, K.-H. Kim, *Aging Cell* **2016**.
- [243] M. Gertz, C. Steegborn, *Cell. Mol. Life Sci.* **2016**, 73, 2871-2896.
- [244] M. Gertz, C. Steegborn, *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **2010**, 1804, 1658-1665.
- [245] E. L. Bell, L. Guarente, *Mol. Cell* **2011**, 42, 561-568.
- [246] M. Lakshminarasimhan, C. Steegborn, *Exp. Gerontol.* **2011**, 46, 174-177.
- [247] T. Nakagawa, D. J. Lomb, M. C. Haigis, L. Guarente, *Cell* **2009**, 137, 560-570.
- [248] M. Ogura, Y. Nakamura, D. Tanaka, X. Zhuang, Y. Fujita, A. Obara, A. Hamasaki, M. Hosokawa, N. Inagaki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, 393, 73-78.
- [249] J. Park, Y. Chen, D. X. Tishkoff, C. Peng, M. Tan, L. Dai, Z. Xie, Y. Zhang, B. M. Zwaans, M. E. Skinner, *Mol. Cell* **2013**, 50, 919-930.
- [250] J. Du, Y. Zhou, X. Su, J. J. Yu, S. Khan, H. Jiang, J. Kim, J. Woo, J. H. Kim, B. H. Choi, *Science* **2011**, 334, 806-809.
- [251] C. Roessler, T. Nowak, M. Pannek, M. Gertz, G. T. Nguyen, M. Scharfe, I. Born, W. Sippl, C. Steegborn, M. Schutkowski, *Angew. Chem.* **2014**, 126, 10904-10908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 10728-10732.
- [252] M. Tan, C. Peng, K. A. Anderson, P. Chhoy, Z. Xie, L. Dai, J. Park, Y. Chen, H. Huang, Y. Zhang, *Cell Metabol.* **2014**, 19, 605-617.
- [253] E. Michishita, R. A. McCord, L. D. Boxer, M. F. Barber, T. Hong, O. Gozani, K. F. Chua, *Cell Cycle* **2009**, 8, 2664-2666.
- [254] B. D. Sanders, B. Jackson, R. Marmorstein, *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **2010**, 1804, 1604-1616.
- [255] S. Moniot, M. Weyand, C. Steegborn, *Front. Pharmacol.* **2012**, 3, 16.
- [256] M. Lawson, U. Uciechowska, J. Schemies, T. Rumpf, M. Jung, W. Sippl, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms* **2010**, 1799, 726-739.
- [257] J. Min, J. Landry, R. Sternglanz, R.-M. Xu, *Cell* **2001**, 105, 269-279.
- [258] M. S. Finnin, J. R. Donigian, N. P. Pavletich, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2001**, 8, 621-625.

- [259] M. S. Cosgrove, K. Bever, J. L. Avalos, S. Muhammad, X. Zhang, C. Wolberger, *Biochemistry* **2006**, *45*, 7511-7521.
- [260] M. Gertz, G. T. T. Nguyen, F. Fischer, B. Suenkel, C. Schlicker, B. Fränzel, J. Tomaschewski, F. Aladini, C. Becker, D. Wolters, *PloS One* **2012**, *7*, e49761.
- [261] L. Jin, W. Wei, Y. Jiang, H. Peng, J. Cai, C. Mao, H. Dai, W. Choy, J. E. Bemis, M. R. Jirousek, J. C. Milne, C. H. Westphal, R. B. Perni, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 24394-24405.
- [262] K. Zhao, X. Chai, R. Marmorstein, *Structure* **2003**, *11*, 1403-1411.
- [263] A. A. Sauve, *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **2010**, *1804*, 1591-1603.
- [264] Y. Cen, D. Y. Youn, A. A. Sauve, *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 1919-1935.
- [265] K. J. Bitterman, R. M. Anderson, H. Y. Cohen, M. Latorre-Esteves, D. A. Sinclair, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 45099-45107.
- [266] M. T. Schmidt, B. C. Smith, M. D. Jackson, J. M. Denu, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 40122-40129.
- [267] A. J. Tervo, S. Kyrylenko, P. Niskanen, A. Salminen, J. Leppänen, T. H. Nyrönen, T. Järvinen, A. Poso, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6292-6298.
- [268] S.-J. Lin, E. Ford, M. Haigis, G. Liszt, L. Guarente, *Genes Dev.* **2004**, *18*, 12-16.
- [269] A. A. Sauve, C. Wolberger, V. L. Schramm, J. D. Boeke, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 435-465.
- [270] K. Zhao, X. Chai, A. Clements, R. Marmorstein, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2003**, *10*, 864-871.
- [271] S. Moniot, M. Schutkowski, C. Steegborn, *J. Struct. Biol.* **2013**, *182*, 136-143.
- [272] G. T. T. Nguyen, S. Schaefer, M. Gertz, M. Weyand, C. Steegborn, *Acta Crystallogr., Sect. D: Struct. Biol.* **2013**, *69*, 1423-1432.
- [273] A. Kumar, S. Chauhan, *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *119*, 45-69.
- [274] V. Carafa, D. Rotili, M. Forgione, F. Cuomo, E. Serretiello, G. S. Hailu, E. Jarho, M. Lahtela-Kakkonen, A. Mai, L. Altucci, *Clin. Epigen.* **2016**, *8*, 61-81.
- [275] A. D. Napper, J. Hixon, T. McDonagh, K. Keavey, J.-F. Pons, J. Barker, W. T. Yau, P. Amouzegh, A. Flegg, E. Hamelin, R. J. Thomas, M. Kates, S. Jones, M. A. Navia, J. O. Saunders, P. S. DiStefano, R. Curtis, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8045-8054.
- [276] B. Schwer, B. J. North, R. A. Frye, M. Ott, E. Verdin, *J. Cell Biol.* **2002**, *158*, 647-657.
- [277] M. B. Scher, A. Vaquero, D. Reinberg, *Genes Dev.* **2007**, *21*, 920-928.
- [278] K. G. Hoff, J. L. Avalos, K. Sens, C. Wolberger, *Structure* **2006**, *14*, 1231-1240.

- [279] Y. Ohata, S. Matsukawa, Y. Moriyama, T. Michiue, K. Morimoto, Y. Sato, H. Kuroda, *Development, Growth & Differentiation* **2014**, 56, 460-468.
- [280] J. M. Solomon, R. Pasupuleti, L. Xu, T. McDonagh, R. Curtis, P. S. DiStefano, L. J. Huber, *Mol. Cell. Biol.* **2006**, 26, 28-38.
- [281] T. Hoegberg, P. Stroem, M. Ebner, S. Raemsby, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 2033-2036.
- [282] Y. Vara, E. Aldaba, A. Arrieta, J. L. Pizarro, M. I. Arriortua, F. P. Cossio, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 1763-1772.
- [283] M. T. MacDonough, Z. Shi, K. G. Pinney, *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 3624-3629.
- [284] V. Sridharan, S. Perumal, C. Avendaño, J. C. Menéndez, *Synlett* **2006**, 2006, 91-95.
- [285] M. J. Mc, M. Miller, US3769298 A, **1973**.
- [286] N. V. Alekseeva, A. I. Bokanov, L. M. Alekseeva, L. I. Budanova, *Pharm. Chem. J.* **2003**, 37, 421-424.
- [287] N. Mahindroo, C.-F. Huang, Y.-H. Peng, C.-C. Wang, C.-C. Liao, T.-W. Lien, S. K. Chittimalla, W.-J. Huang, C.-H. Chai, E. Prakash, C.-P. Chen, T.-A. Hsu, C.-H. Peng, I. L. Lu, L.-H. Lee, Y.-W. Chang, W.-C. Chen, Y.-C. Chou, C.-T. Chen, C. M. V. Goparaju, Y.-S. Chen, S.-J. Lan, M.-C. Yu, X. Chen, Y.-S. Chao, S.-Y. Wu, H.-P. Hsieh, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 8194-8208.
- [288] J. H. Hutchinson, T. J. Seiders, J. M. Arruda, N. S. Stock, J. R. Roppe, B. Wang, WO2009045700 A2, **2009**.
- [289] B. Busch, B. Flatt, X. H. Gu, R. Martin, R. Mohan, T. L. Wang, J. Wu, US20050054634 A1, **2005**.
- [290] W. Li, Y. Hu, J. Li, J. R. Thomason, D. DeVincentis, X. Du, J. Wu, R. Hotchandani, T. S. Rush III, J. S. Skotnicki, S. Tam, P. S. Chockalingam, E. A. Morris, J. I. Levin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 4546-4550.
- [291] J. J. Matasi, D. Tulshian, D. A. Burnett, W. L. Wu, P. Korakas, L. S. Silverman, T. K. Sasikumar, L. Qiang, M. S. Domalski, WO2006002051 A1, **2006**.
- [292] G. S. Cockerill, H. J. Easterfield, J. M. Percy, S. Pintat, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2591-2599.
- [293] P. Micuch, D. Seebach, *Hel. Chim. Acta* **2002**, 85, 1567-1577.
- [294] B. Severino, F. Fiorino, E. Perissutti, F. Frecentese, G. Cirino, F. Roviezzo, V. Santagada, G. Caliendo, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 6009-6020.
- [295] V. F. Pozdnev, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 7115-7118.
- [296] R. F. Miambo, M. Laronze-Cochard, A.-M. Lawson, R. Guillot, B. Baldeyrou, A. Lansiaux, C. T. Supuran, J. Sapi, *Tetrahedron* **2014**, 70, 8286-8302.

-
- [297] V. Humne, Y. Dangat, K. Vanka, P. Lokhande, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 4832-4836.
- [298] B. Heltweg, J. Trapp, M. Jung, *Methods* **2005**, *36*, 332-337.
- [299] H. Deppe, A. Briguet, G. Metz, M. Erb, WO2008019825 A1, **2008**.
- [300] A. Oberheide, Masterarbeit, FSU Jena, **2016**.
- [301] A. B. Castoreno, U. S. Eggert, *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*, 86-94.
- [302] N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.
- [303] R. F. Heck, J. P. Nolley, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320-2322.
- [304] S. Prühs, C. Dinter, T. Blume, A. Schütz, M. Harre, H. Neh, *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 441-445.
- [305] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.
- [306] A. B. Theis, C. A. Townsend, *Synth. Commun.* **1981**, *11*, 157-166.
- [307] W. L. F. Armarego, C. L. L. Chain, *Purification of Laboratory Chemicals*, 5. Aufl., Butterworth-Heinemann, Cornwell, **2003**.
- [308] S. Haftchenary, H. A. Luchman, A. O. Jouk, A. J. Veloso, B. D. G. Page, X. R. Cheng, S. S. Dawson, N. Grinshtein, V. M. Shahani, K. Kerman, D. R. Kaplan, C. Griffin, A. M. Aman, R. Al-awar, S. Weiss, P. T. Gunning, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 1102-1107.
- [309] M. Togashi, Y. Urano, H. Kojima, T. Terai, K. Hanaoka, K. Igarashi, Y. Hirata, T. Nagano, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1704-1707.
- [310] K. E. Dittenhafer-Reed, J. L. Feldman, J. M. Denu, *Chem. Bio. Chem.* **2011**, *12*, 281-289.
- [311] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- [312] K. Ishiba, M.-a. Morikawa, C. Chikara, T. Yamada, K. Iwase, M. Kawakita, N. Kimizuka, *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 1552-1556; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 1532-1536.

10 Abkürzungsverzeichnis

[α] _D	optische Rotation bei 589 nm (D-Linie Natrium)
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
ADP	Adenosindiphosphat
AG	Aktiengesellschaft
All	Allyl
AMC	7-Amino-4-methylcoumarin
Äquiv.	Äquivalent(e)
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	abgeschwächte Totalreflektion
AV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
ber.	berechnet
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -Butyldicarbonat
br. s.	breites Singulett
bzw.	beziehungsweise
c	concentration
ca.	zirka
COMU	(1-Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)dimethylamino-morpholino-carbenium-hexafluorophosphat
d (NMR)	Dublett
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
dba	Dibenzylidenaceton
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Dublett von Dublett
ddd	Dublett von Dublett von Dublett
DDQ	2.3-Dichlor-5.6-dicyano-1.4-benzochinon
DDR	<i>DNA damage response</i>
Deoxo-Fluor	Bis(2-methoxyethyl)aminoschwefeltrifluorid
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DIC	<i>N,N</i> -Diisopropylcarbodiimid

DMAP	Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTMM	4-(4.6-Dimethoxy[1.3.5]triazin-2-yl)-4-methylmorpholiniumchlorid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DPPA	Diphenylphosphorylazid
dq	Dublett von Quartett
ED ₅₀	Mittlere effektive Dosis
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
ESI	<i>electrospray ionization</i>
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> ; und andere
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i>
FMN	Flavinmononukleotid
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FT	Fourier transformiert
G2/M-Phase	<i>gap2/mitosis</i> -Phase
gef.	gefunden
GI ₅₀	<i>50% of growth inhibition</i>
GTP	Guanidintriphosphat
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HBTU	2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HDAC	Histondeacetylase
HFIP	1.1.1.3.3.3-Hexafluoroisopropanol
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HOAt	1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
i. V.	im Vakuum
IBX	2-Iodoxybenzoesäure

IC ₅₀	Mittlere inhibitorische Konzentration
IR	Infrarot
<i>J</i>	Kopplungskonstante
LC	<i>liquid chromatography</i>
LD ₅₀	Mittlere lethale Dosis
m (NMR)	Multiplett
<i>m/z</i>	Verhältnis Masse zu Ladung
mAU	<i>milli-absorbance-units</i>
MIC	minimale inhibitorische Konzentration
MS	<i>mass spectrometry</i>
MS 4/5 Å	Molekularsieb 4/5 Å
MS-MS	Tandem Massenspektroskopie
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidinon
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
NOESY	<i>nuclear overhauser effect spectroscopy</i>
ORF	<i>open reading frame</i>
PDB	Proteindatenbank
PI3	Phosphoinositol-3-phosphat
POT1	<i>protection of telomer</i>
PPI	Protein-Protein-Interaktion
ppm	<i>parts per million</i>
PyAOP	(7-Azabenzotriazol-1-yl)tripyrrolidinophosphonium- hexafluorophosphat
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium- hexafluorophosphat
PyBrop	Bromtripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
q	Quartett
RAP1	Repressor/Aktivator Protein 1
<i>R_f</i>	Retentionsfaktor
RIPP	ribosomal synthetisiertes und posttranslational modifiziertes Peptid

RNS	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
t_R	Retentionszeit
s	Singulett
Sir2	<i>silent information regulator</i>
Sirt	<i>silent information regulator two homologue</i>
Smp.	Schmelzpunkt
sp.	Spezies
t	Zeit
T	Temperatur
t (NMR)	Triplett
T3P	<i>2.4.6-tripropyl-1.3.5.2.4.6-trioxatriphosphorinane-2.4.6-trioxide</i>
TBAF	Tetrahydrofuran
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBTU	Tetrabutylammoniumfluorid
td	Triplett von Dublett
TES	<i>N</i> -[Tris-(hydroxymethyl)-methyl]-2-aminoethansulfonsäure
TFA	1,1,1-Trifluoressigsäure
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
TFE	1,1,1-Trifluorethanol
TGI	<i>total growth inhibition</i>
THC-OH	1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol-1-Carbonsäure
THF	Tetrahydrofuran
TIN2	TRF1- <i>interacting protein</i> 2
TMS	Trimethylsilan
TOMM	<i>thiazol/oxazol modified Mircococcine</i>
TPP	POT1- <i>interacting protein</i>
TRF1/2	<i>telomeric repeat binding protein</i> 1/2
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
u. A.	unter Anderem
UV	Ultraviolett
Vol/v	Volumen
Xaa	Aminosäure
Z (Schutzgruppe)	Benzyloxycarbonyl

z. B.	zum Beispiel
ZMAL	Z-Lys(Ac)-AMC
δ	chemische Verschiebung
ν	Wellenzahl

11 Spektrenanhang

11.1 Totalsynthese Urukthapelstatin A

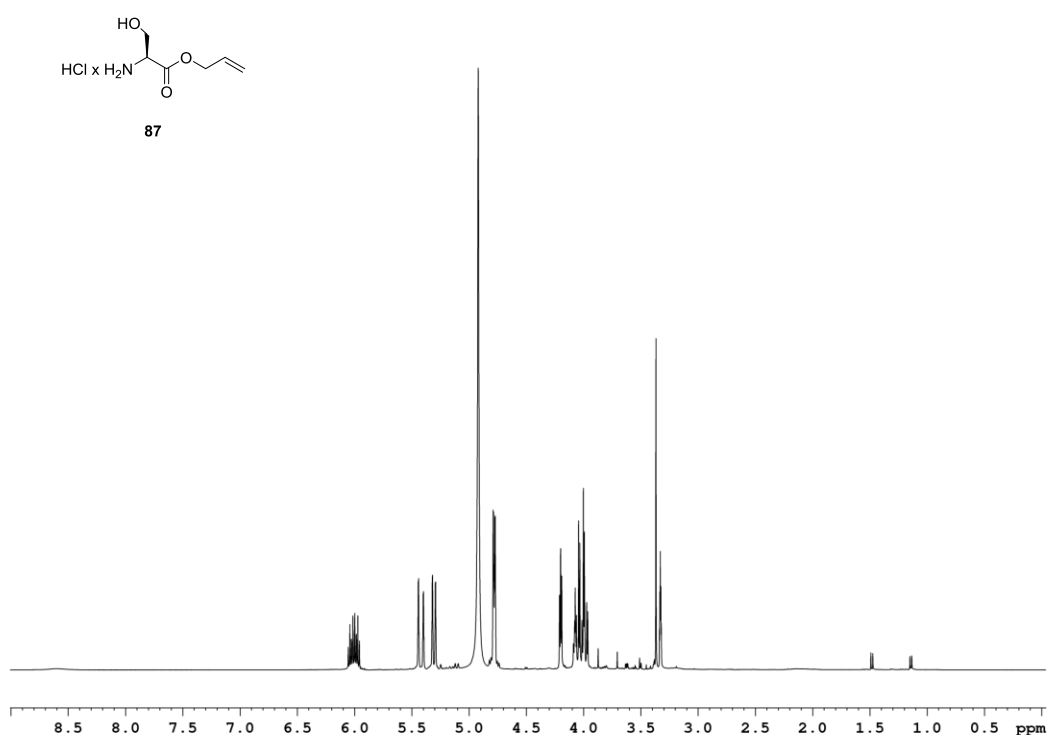


Abbildung 11.1: ¹H-NMR-Spektrum des Allylesters **87** (400 MHz, MeOD-d₄).

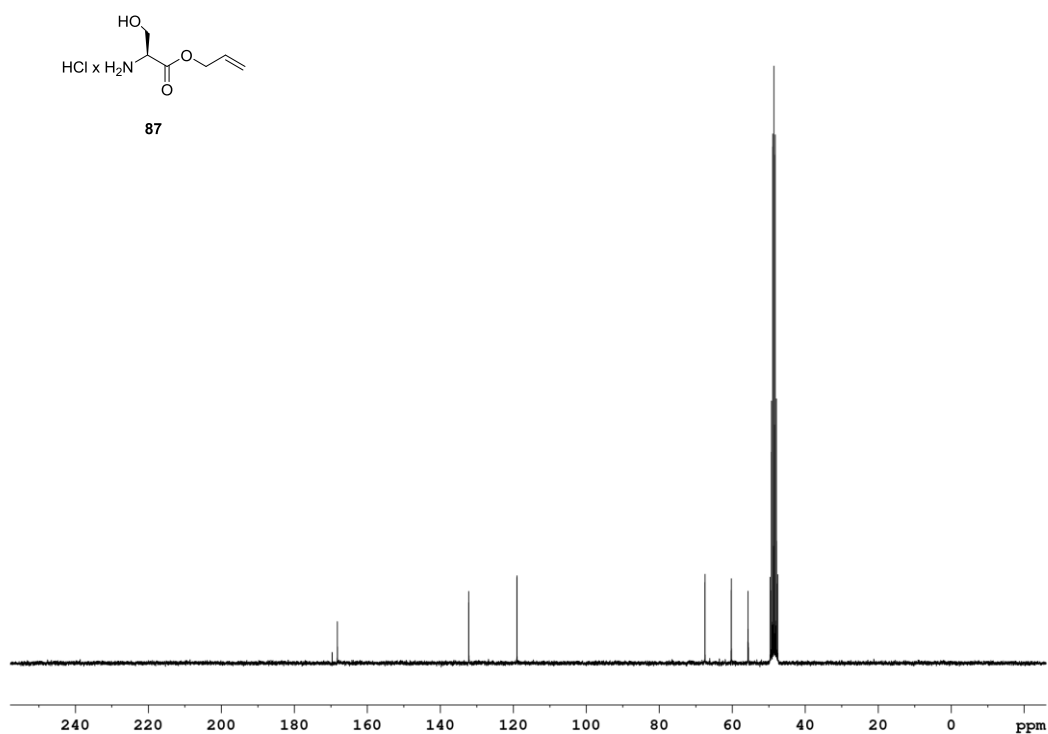


Abbildung 11.2: ¹³C-NMR-Spektrum des Allylesters **87** (101 MHz, MeOD-d₄).

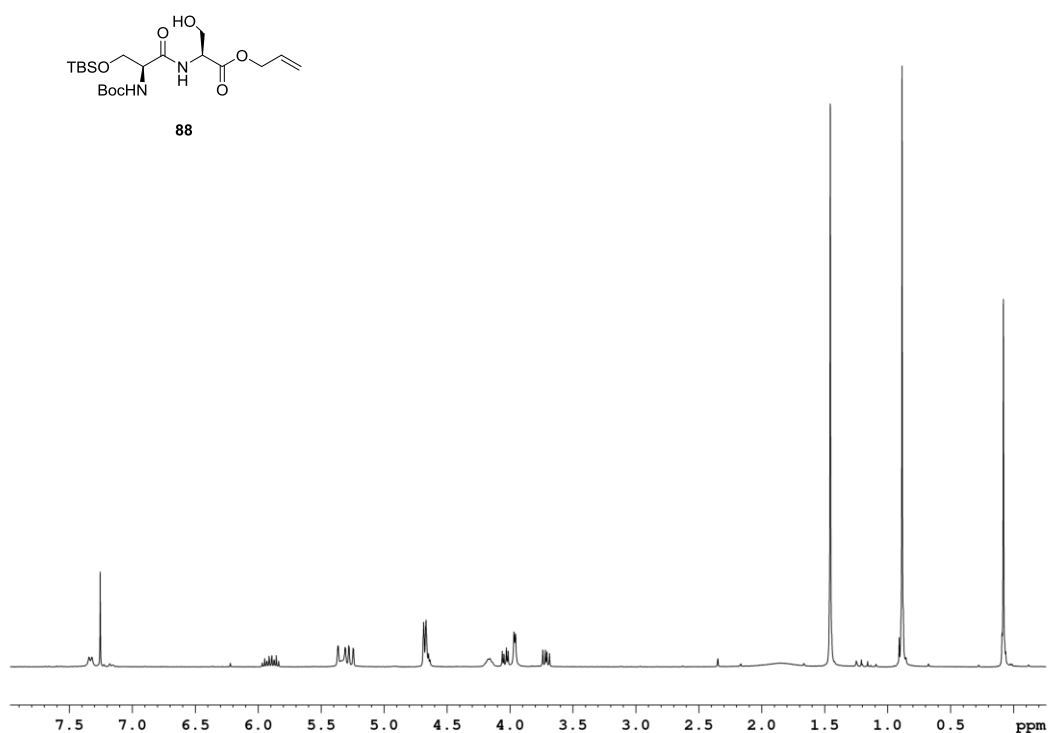


Abbildung 11.3: ^1H -NMR-Spektrum des Dipeptids **88** (300 MHz, CDCl_3).₃

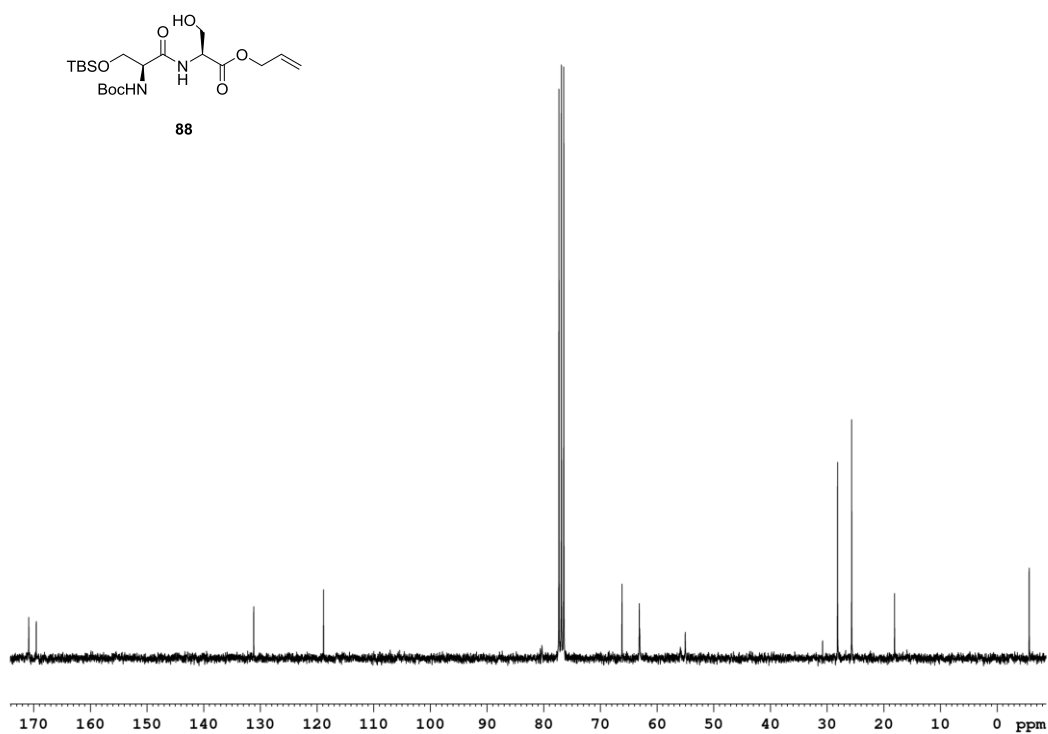


Abbildung 11.4: ^{13}C -NMR-Spektrum des Dipeptids **88** (75 MHz, CDCl_3).

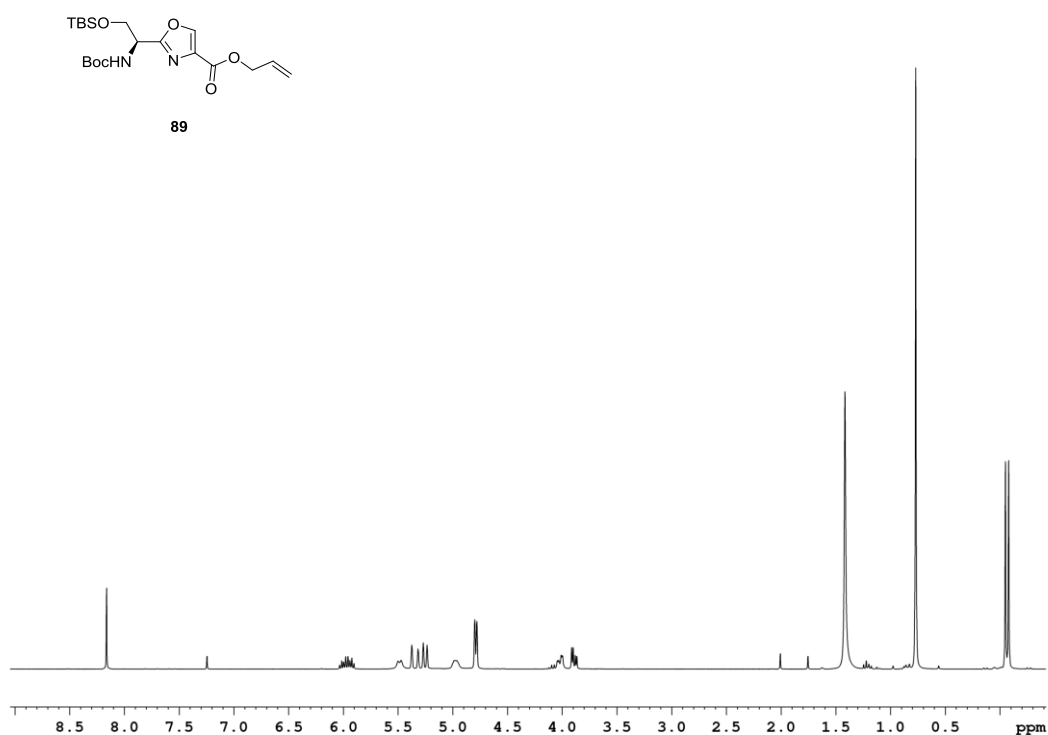


Abbildung 11.5: ^1H -NMR-Spektrum des Oxazols **89** (300 MHz, CDCl_3).

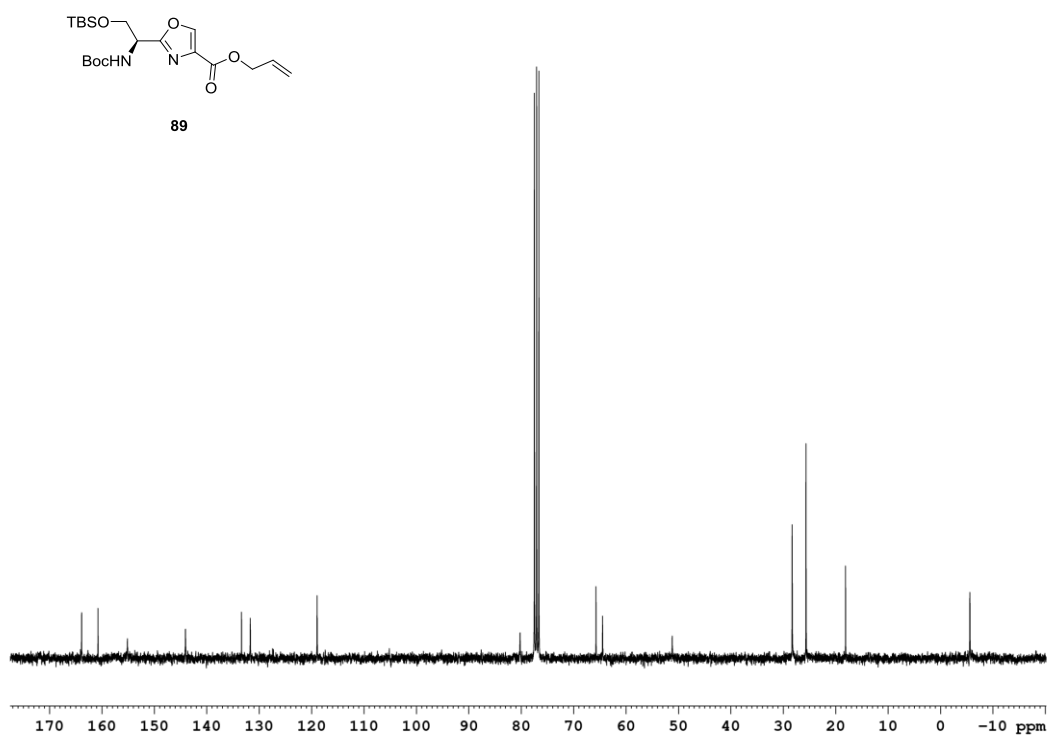


Abbildung 11.6: ^{13}C -NMR-Spektrum des Oxazols **89** (75 MHz, CDCl_3).

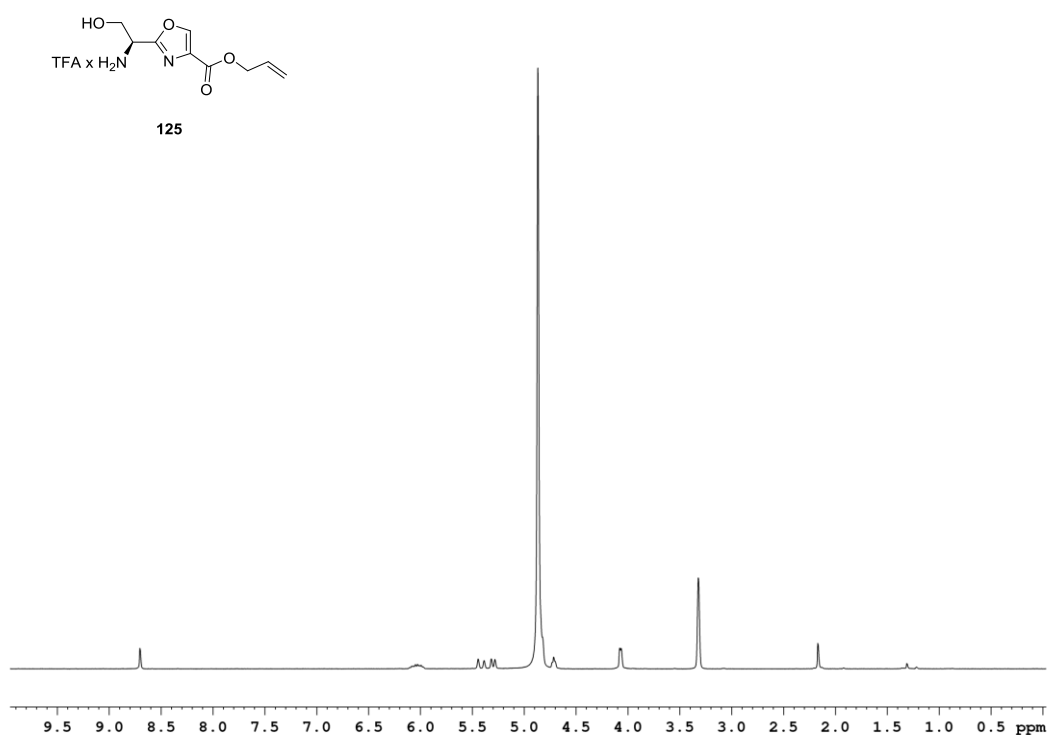


Abbildung 11.7: ¹H-NMR-Spektrum des Ammoniumsalzes **125** (300 MHz, MeOD-d₄).

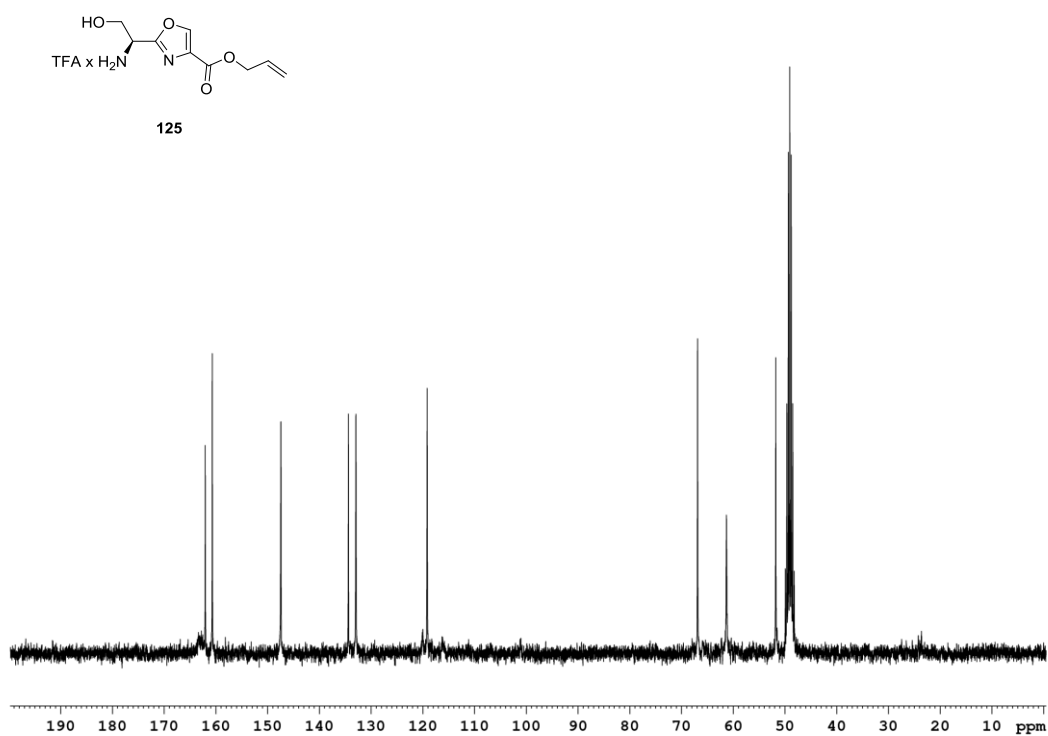


Abbildung 11.8: ¹³C-NMR-Spektrum des Ammoniumsalzes **125** (75 MHz MeOD-d₄).

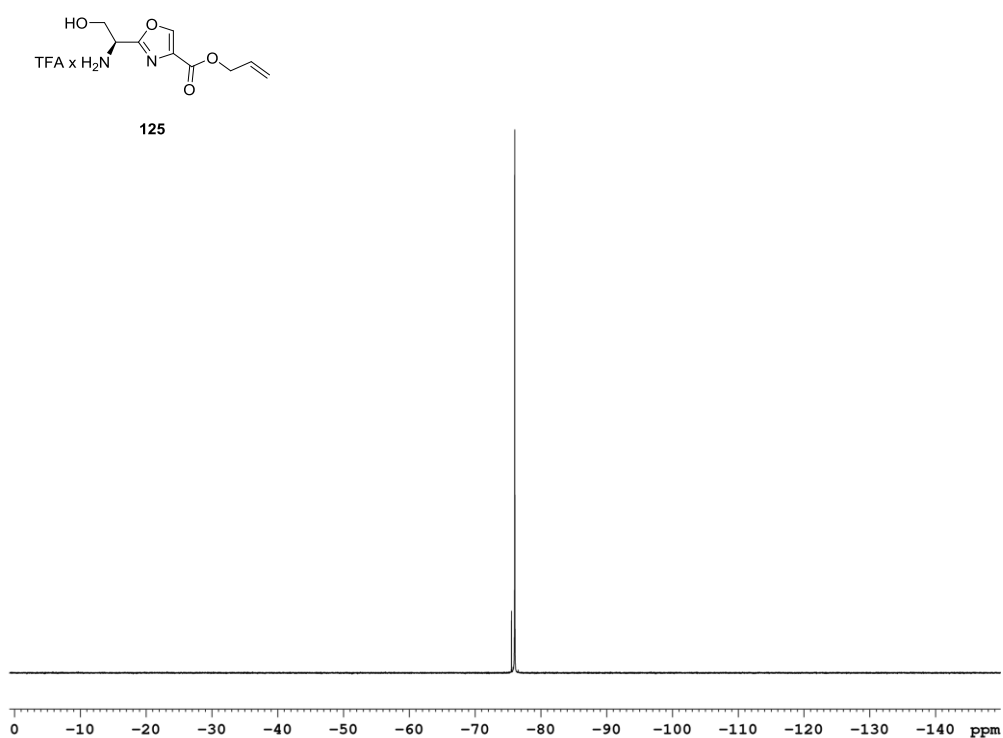


Abbildung 11.9: ^{19}F -NMR-Spektrum des Ammoniumsalzes **125** (377 MHz, CDCl_3).

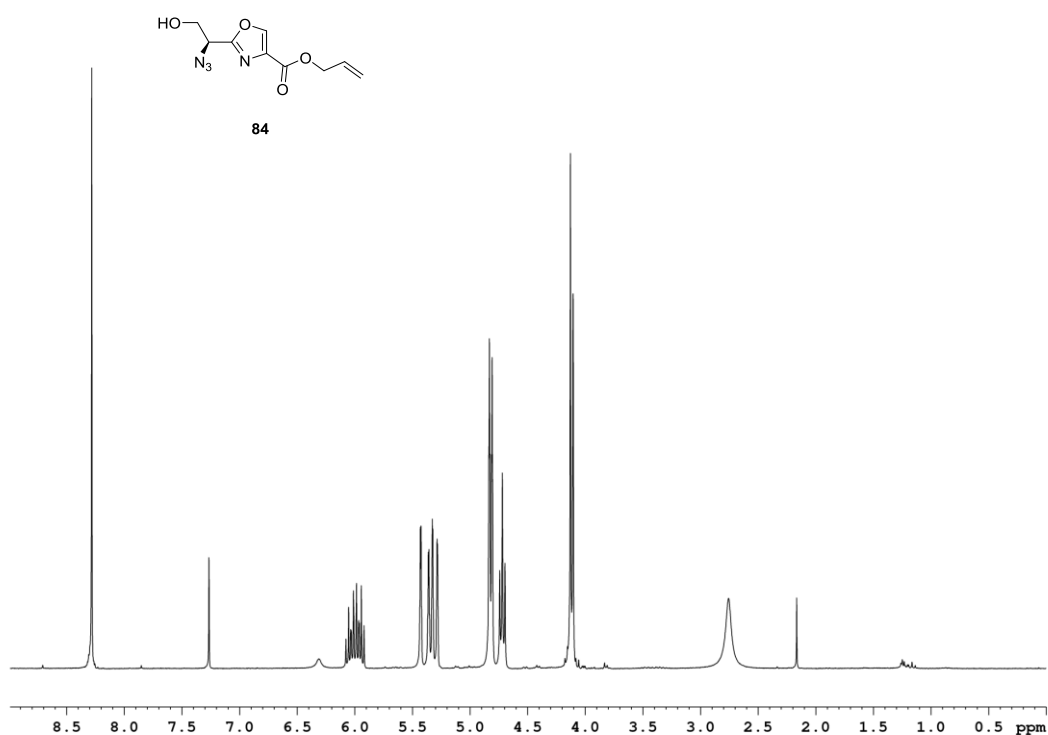


Abbildung 11.10: ¹H-NMR-Spektrum des Azids **84** (250 MHz, CDCl₃).

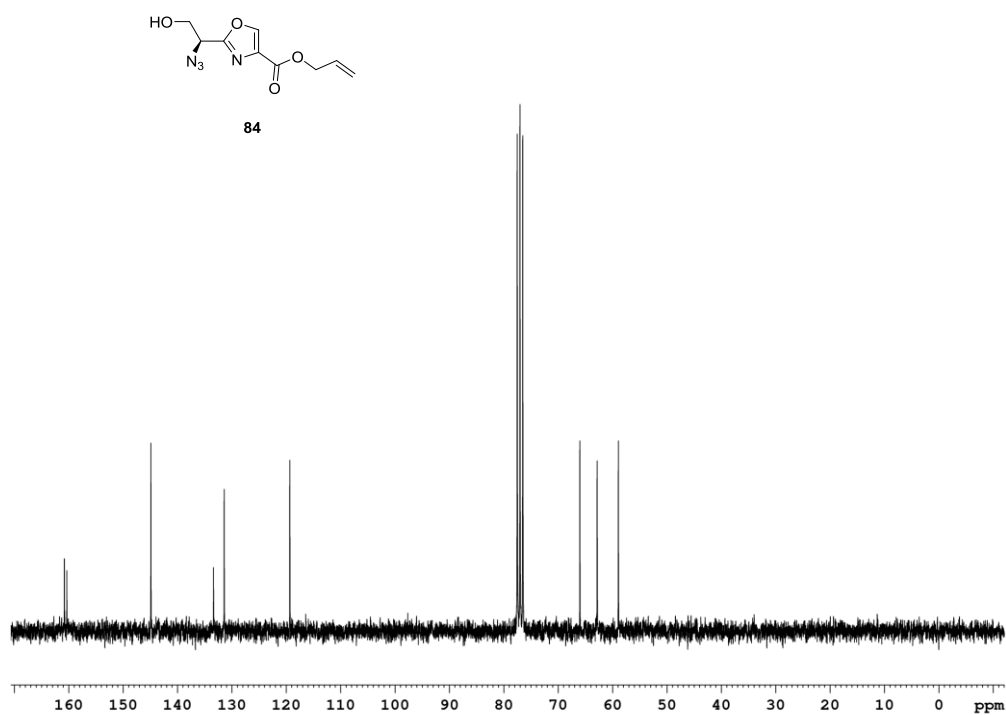


Abbildung 11.11: ¹³C-NMR-Spektrum des Azids **84** (63 MHz, CDCl₃).

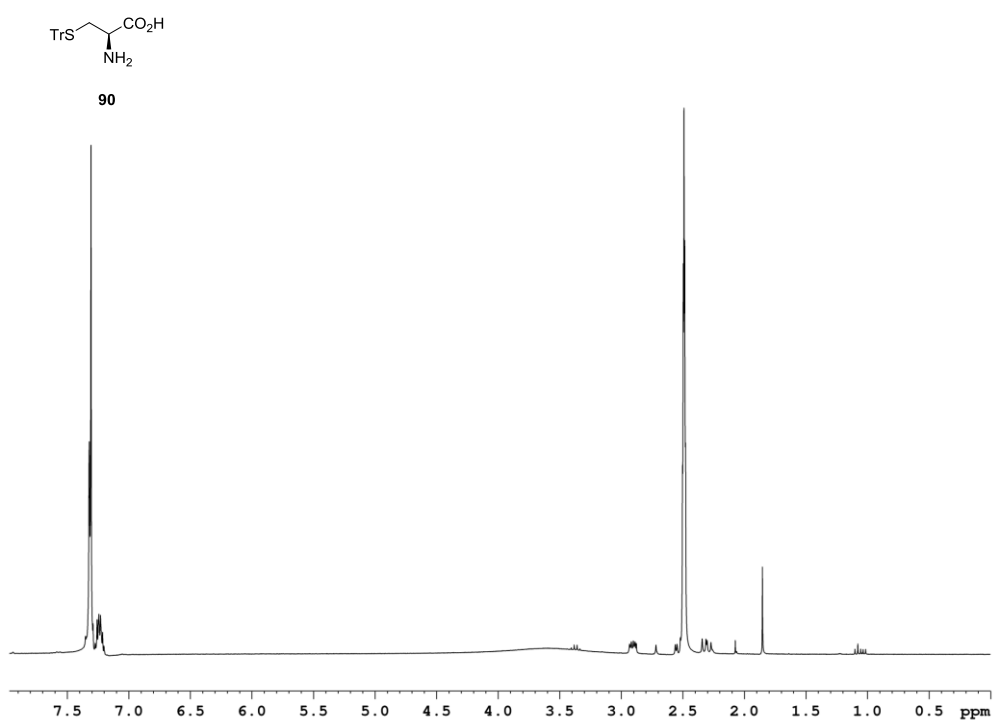


Abbildung 11.12: ^1H -NMR-Spektrum des Tritylthioethers **90** (300 MHz, DMSO-d_6).

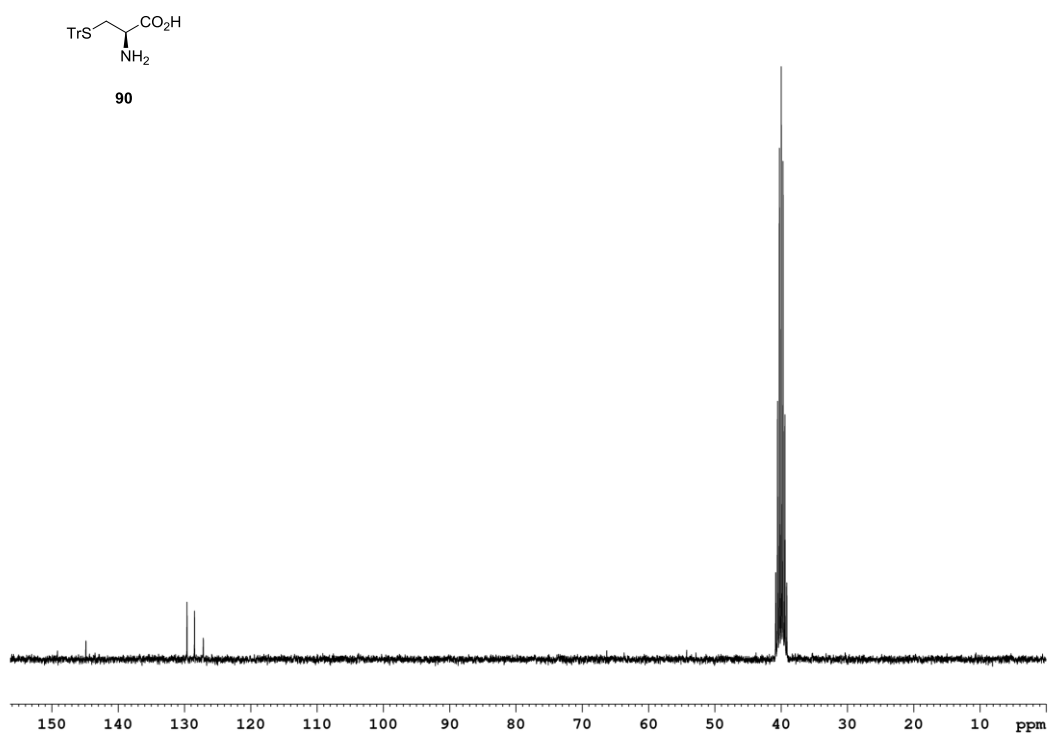


Abbildung 11.13: ^{13}C -NMR-Spektrum des Tritylthioethers **90** (75 MHz, DMSO-d_6).

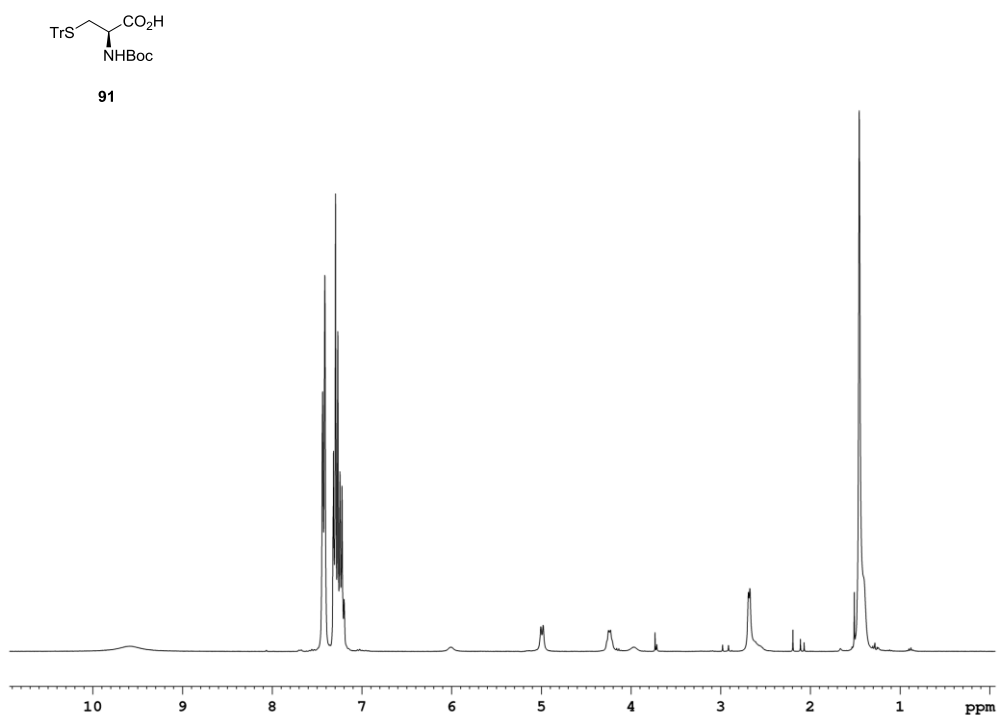


Abbildung 11.14: ^1H -NMR-Spektrum der Carbonsäure **91** (300 MHz, CDCl_3).

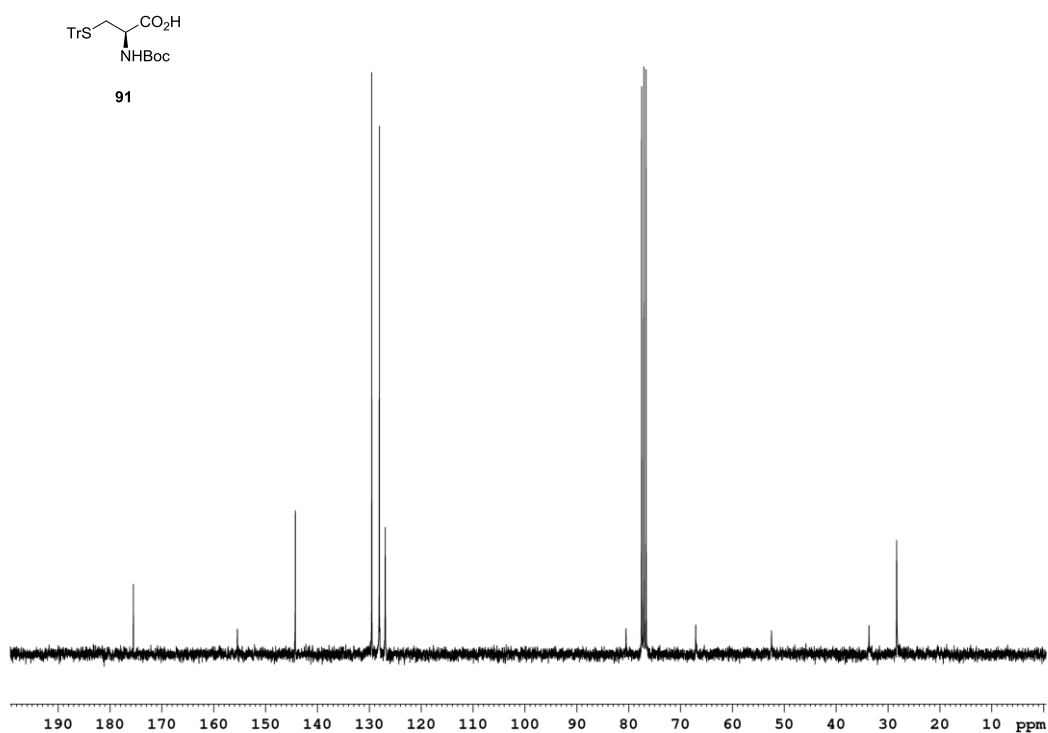


Abbildung 11.15: ^{13}C -NMR-Spektrum der Carbonsäure **91** (75 MHz, CDCl_3).

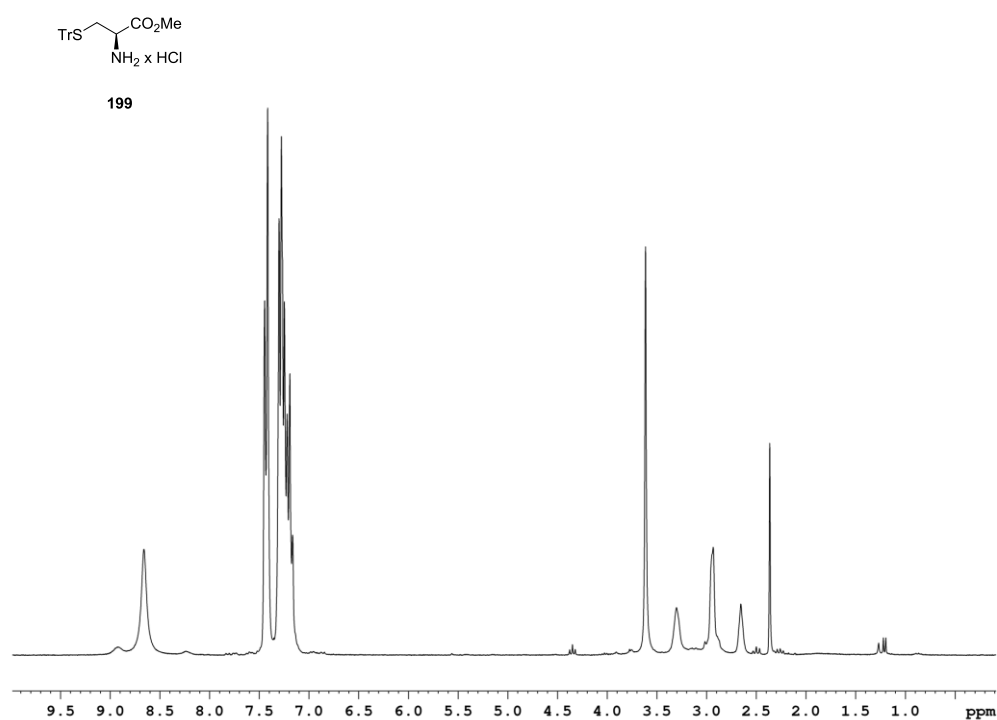


Abbildung 11.16: ^1H -NMR-Spektrum des Methylesters **199** (250 MHz, CDCl_3).

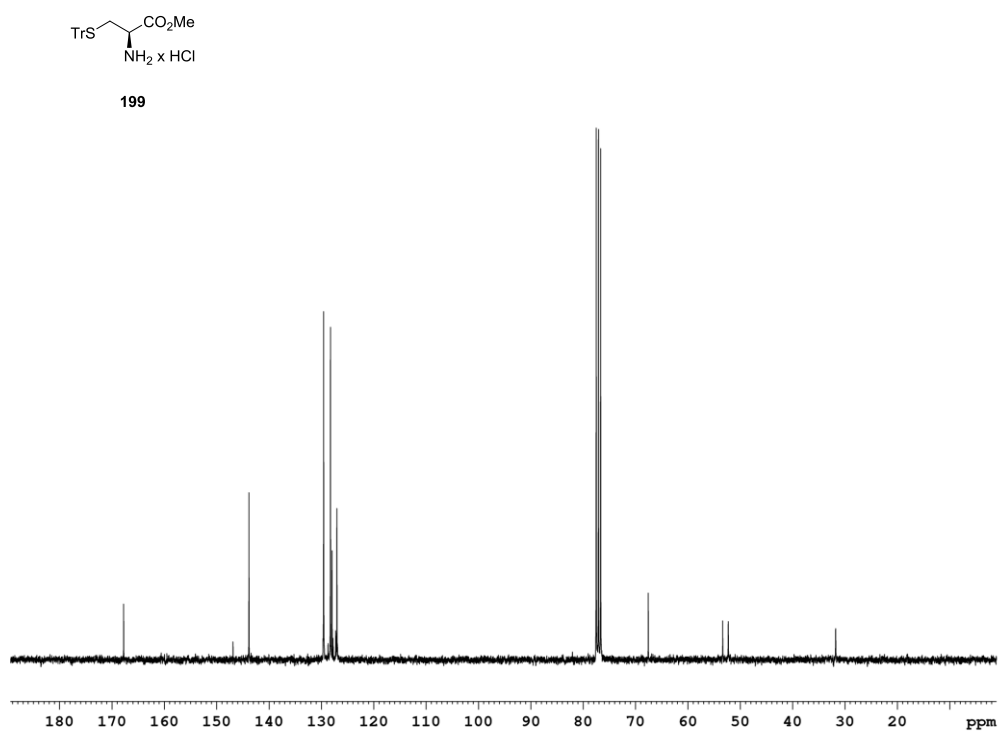


Abbildung 11.17: ^{13}C -NMR-Spektrum des Methylesters **199** (75 MHz, CDCl_3).

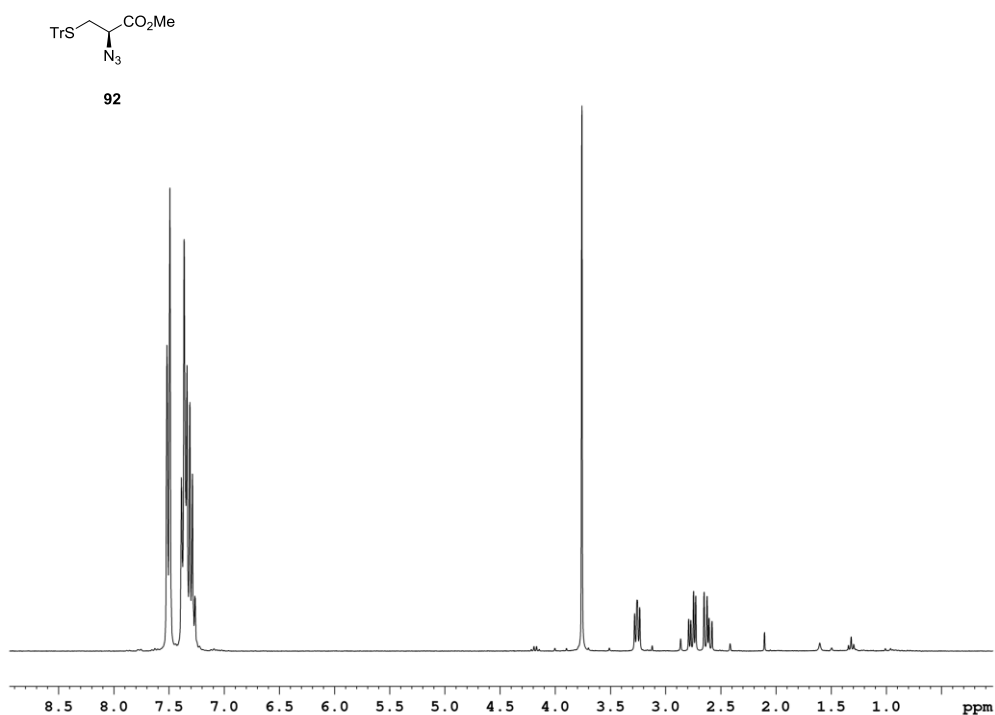


Abbildung 11.18: ^1H -NMR-Spektrum des Azids **92** (300 MHz, CDCl_3).

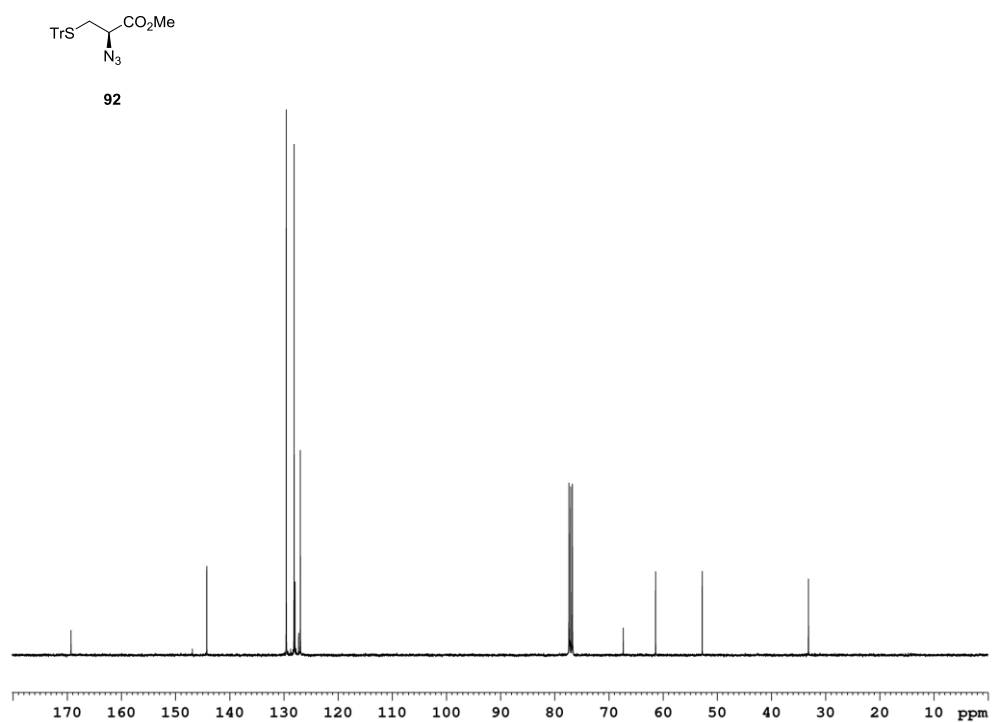
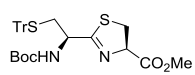
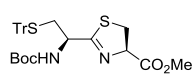


Abbildung 11.19: ^{13}C -NMR-Spektrum des Azids **92** (75 MHz, CDCl_3).



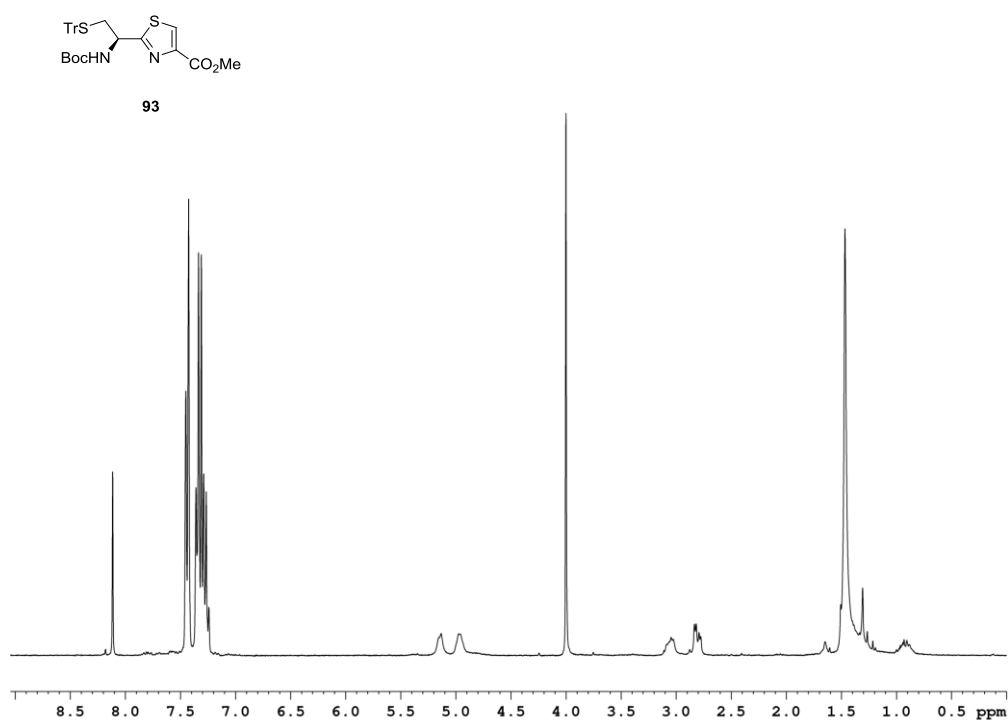


Abbildung 11.22: ¹H-NMR-Spektrum des Thiazols **93** (300 MHz, CDCl₃).

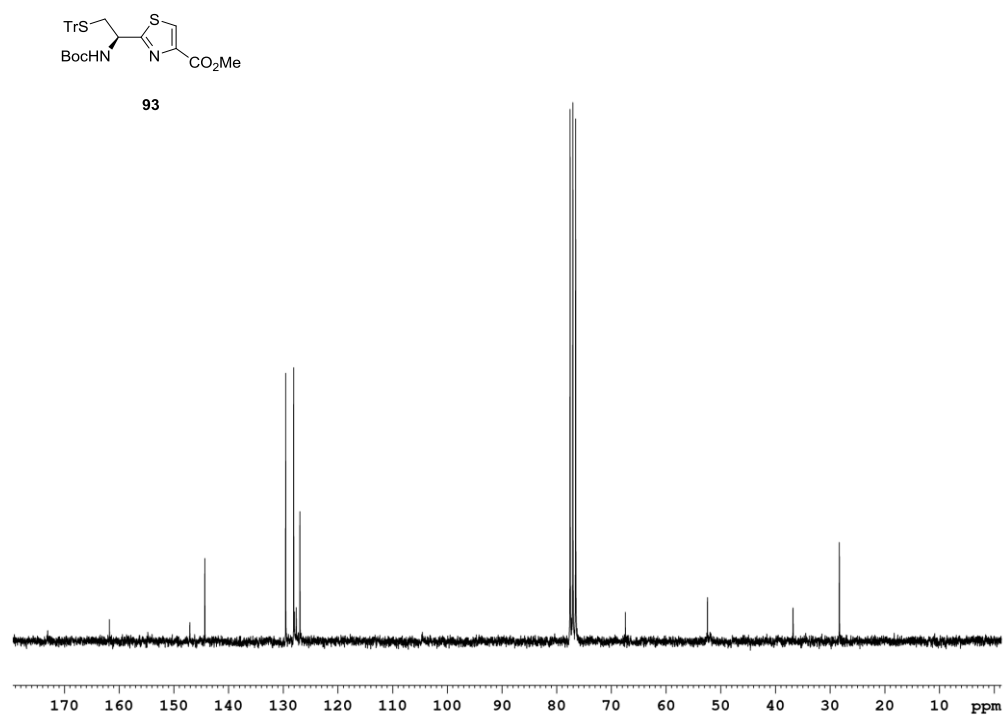


Abbildung 11.23: ¹³C-NMR-Spektrum des Thiazols **93** (75 MHz, CDCl₃).

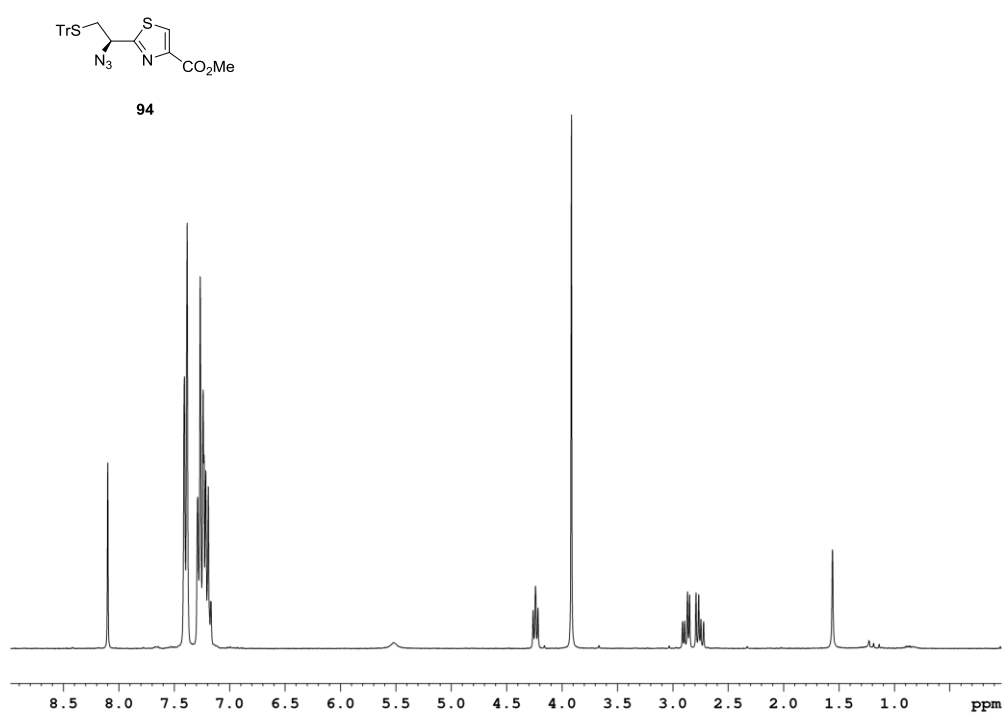


Abbildung 11.24: ^1H -NMR-Spektrum des Azids **94** (300 MHz, CDCl_3).

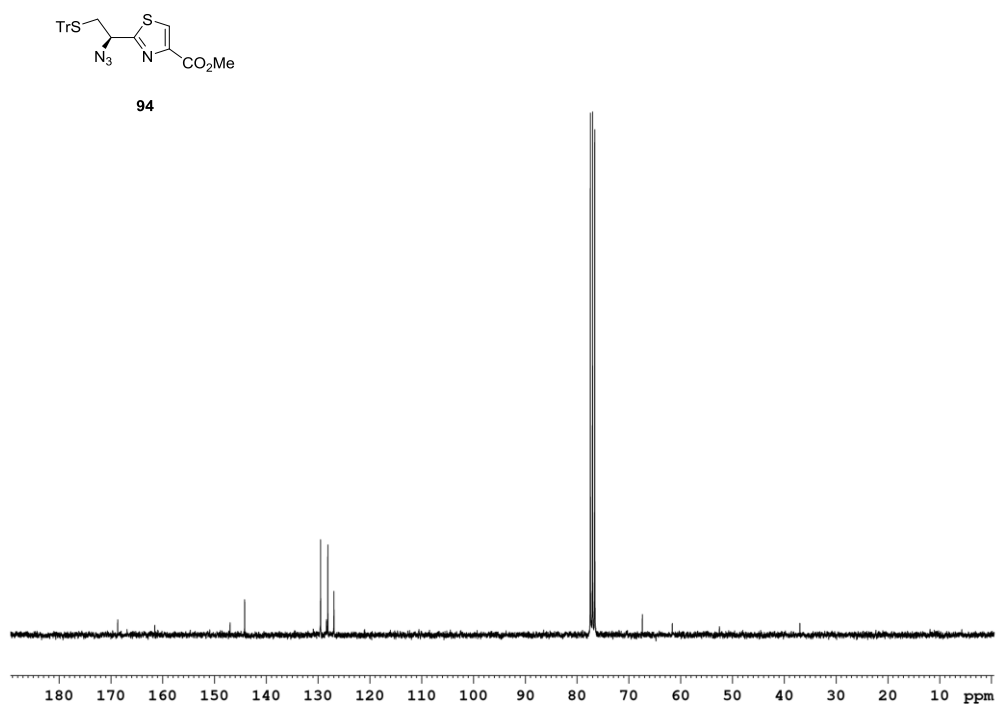


Abbildung 11.25: ^{13}C -NMR-Spektrum des Azids **94** (75 MHz, CDCl_3).

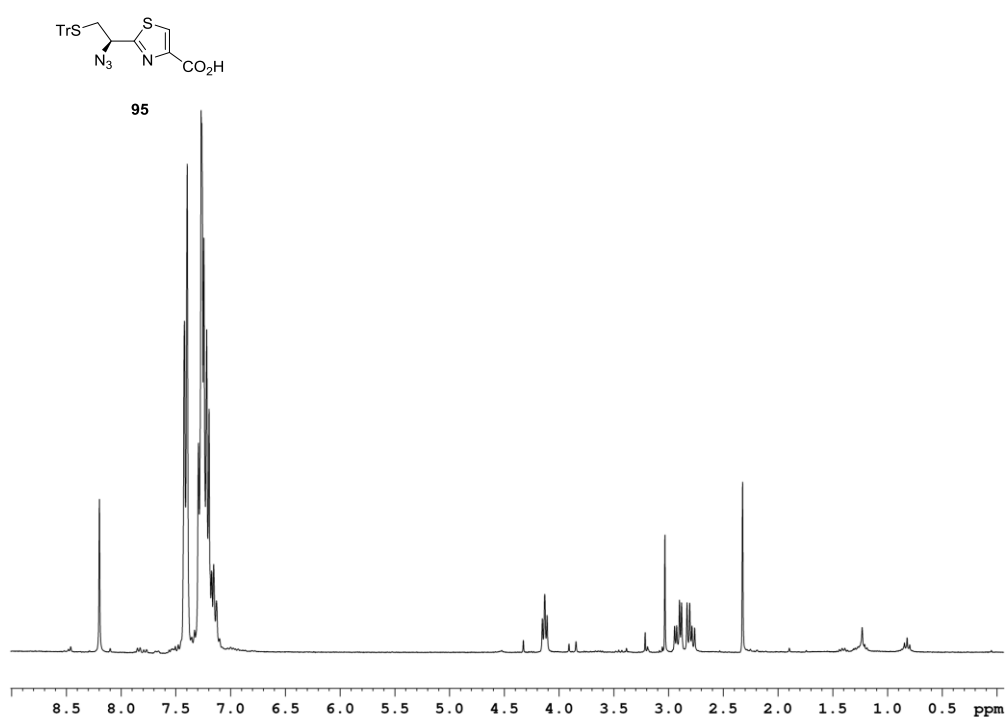


Abbildung 11.26: ¹H-NMR-Spektrum der Carbonsäure **95** (300 MHz, CDCl₃).

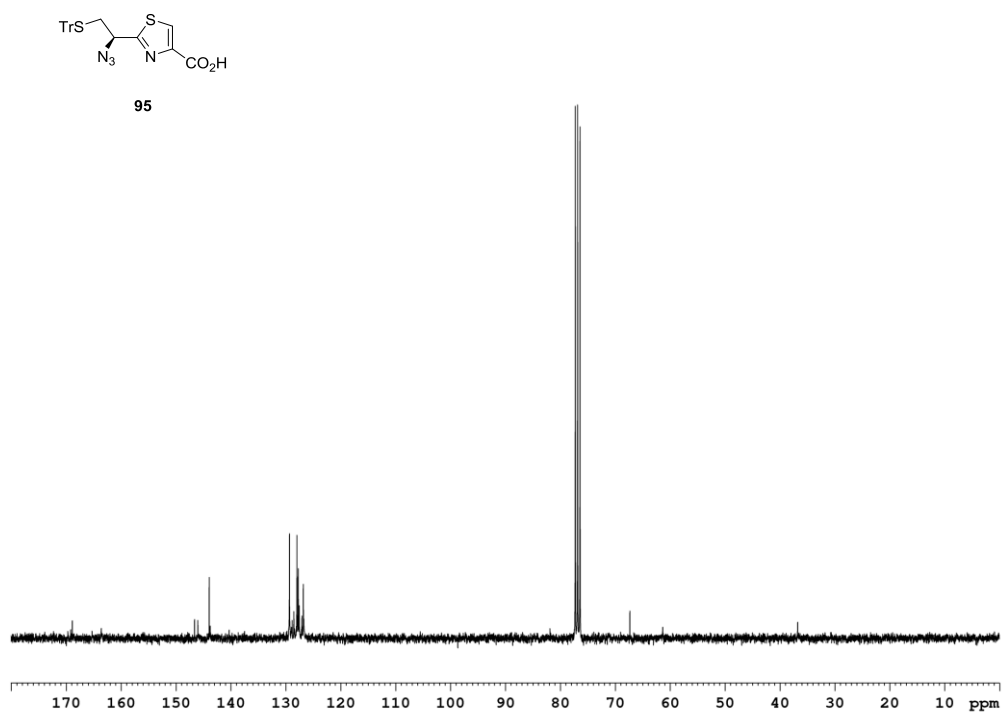


Abbildung 11.27: ¹³C-NMR-Spektrum der Carbonsäure **95** (75 MHz, CDCl₃).

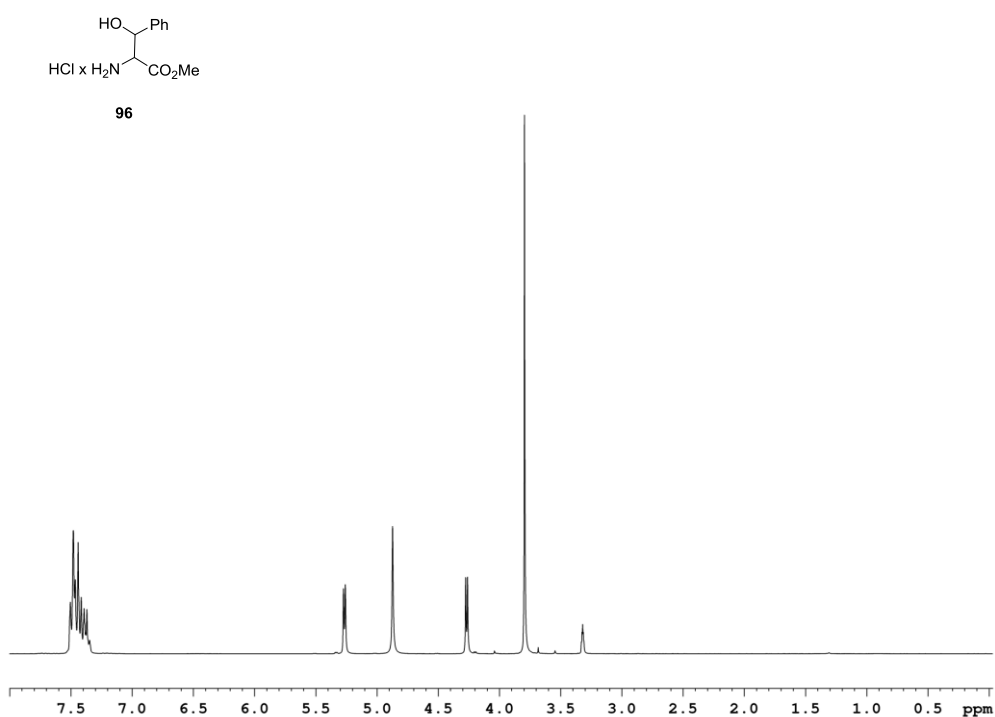


Abbildung 11.28: ^1H -NMR-Spektrum des Methylesters **96** (300 MHz, CDCl_3).

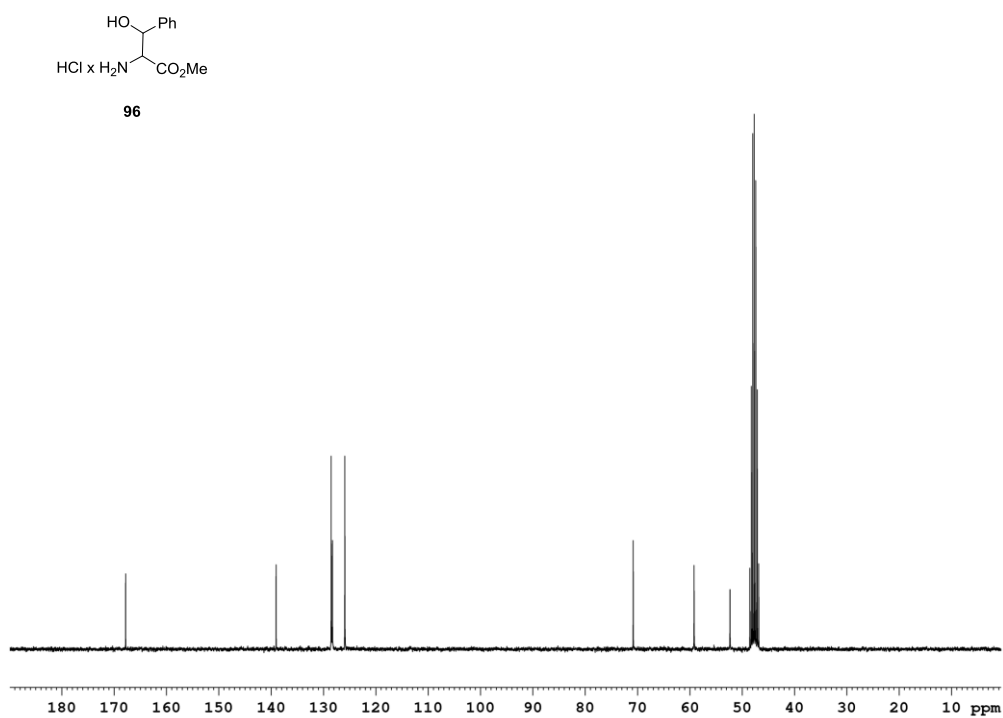


Abbildung 11.29: ^{13}C -NMR-Spektrum des Methylesters **96** (75 MHz, CDCl_3).

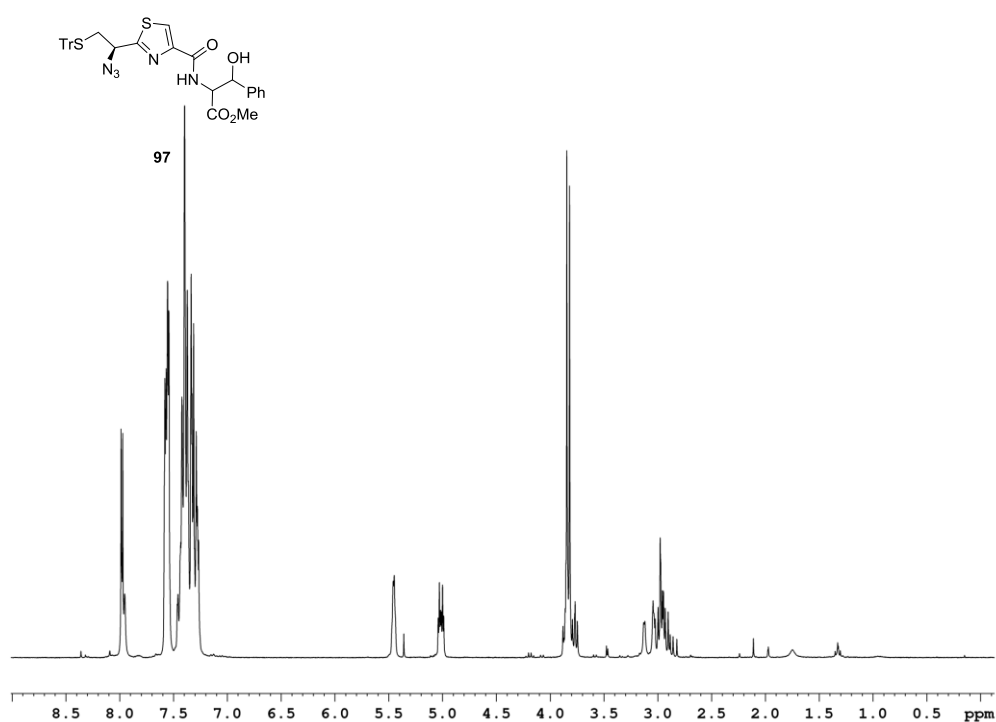


Abbildung 11.30: ¹H-NMR-Spektrum des Thiazols **97** (300 MHz, CDCl₃).

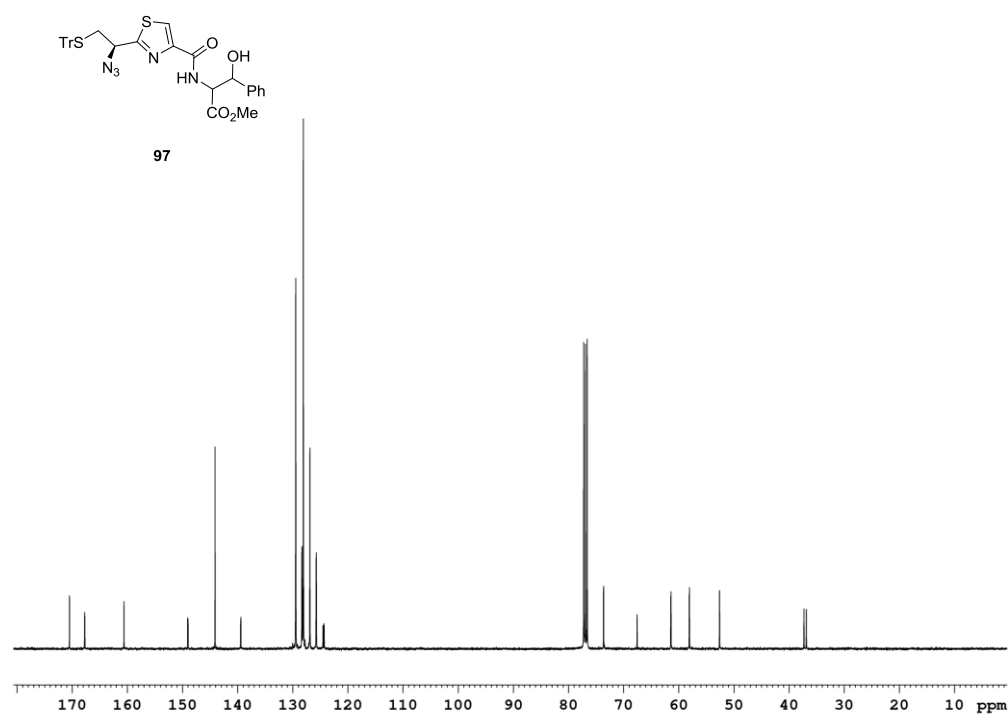


Abbildung 11.31: ¹³C-NMR-Spektrum des Thiazols **97** (101 MHz, CDCl₃).

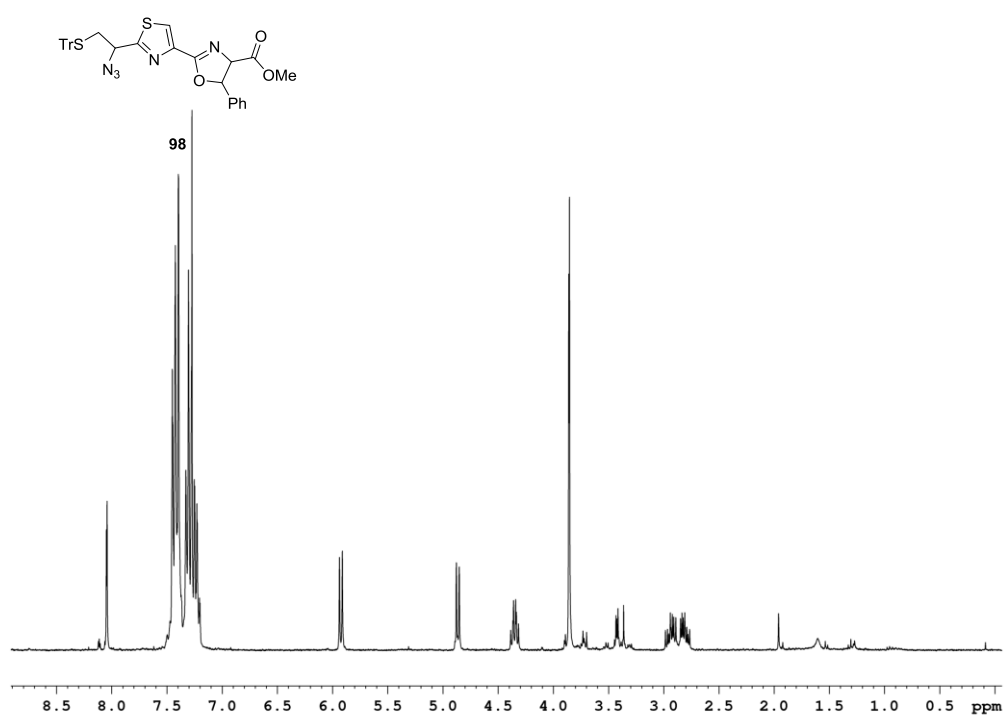


Abbildung 11.32: ¹H-NMR-Spektrum des Oxazolins **98** (300 MHz, CDCl₃).

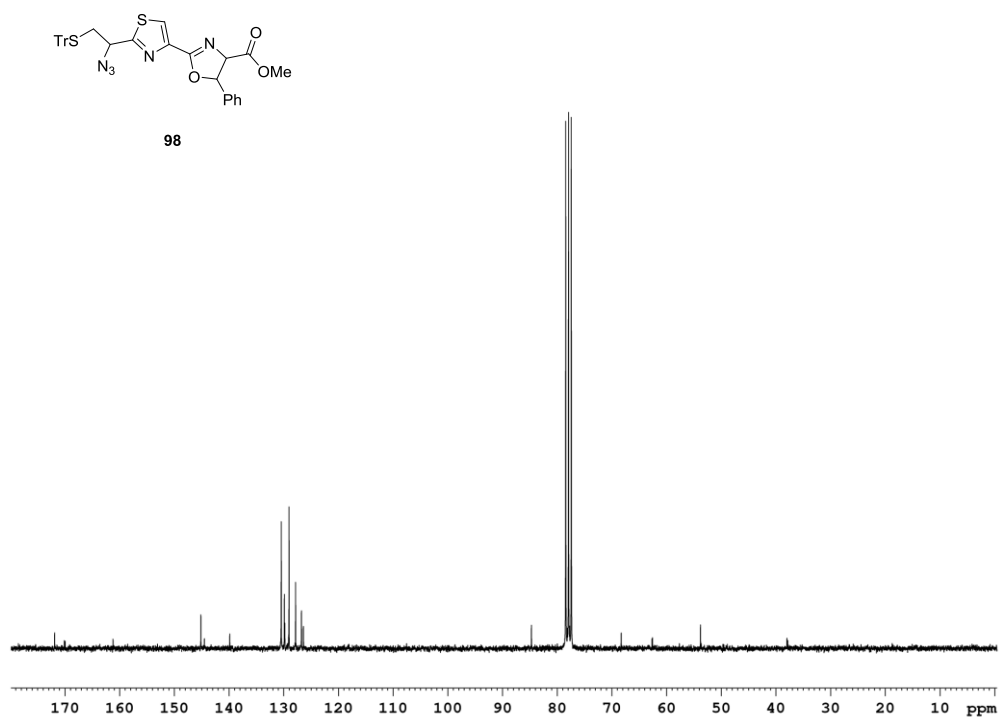


Abbildung 11.33: ¹³C-NMR-Spektrum des Oxazolins **98** (63 MHz, CDCl₃).

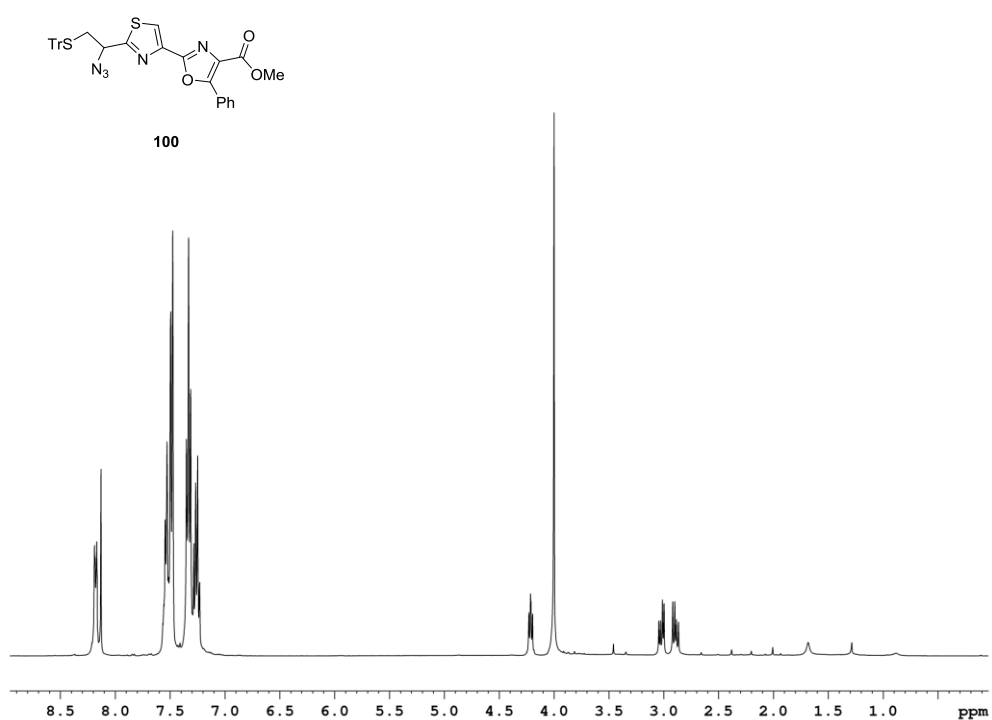


Abbildung 11.34: ^1H -NMR-Spektrum des Biazols **100** (400 MHz, CDCl_3).

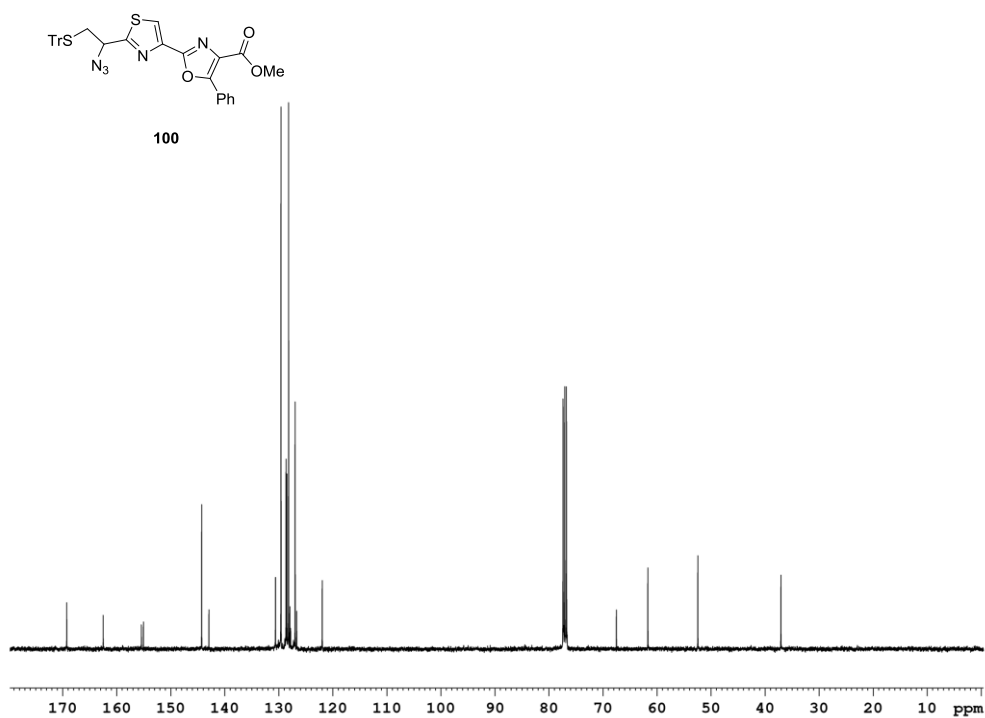


Abbildung 11.35: ^{13}C -NMR-Spektrum des Biazols **100** (101 MHz, CDCl_3).

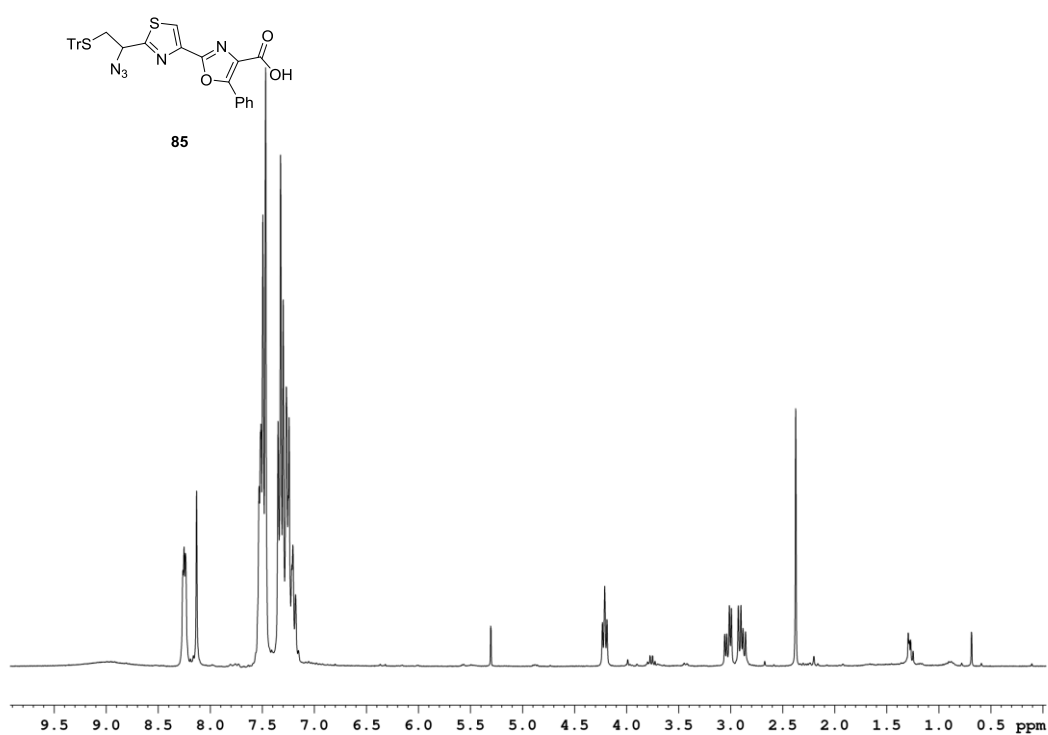


Abbildung 11.36: ^1H -NMR-Spektrum der Biazolcarbonsäure **85** (300 MHz, CDCl_3).

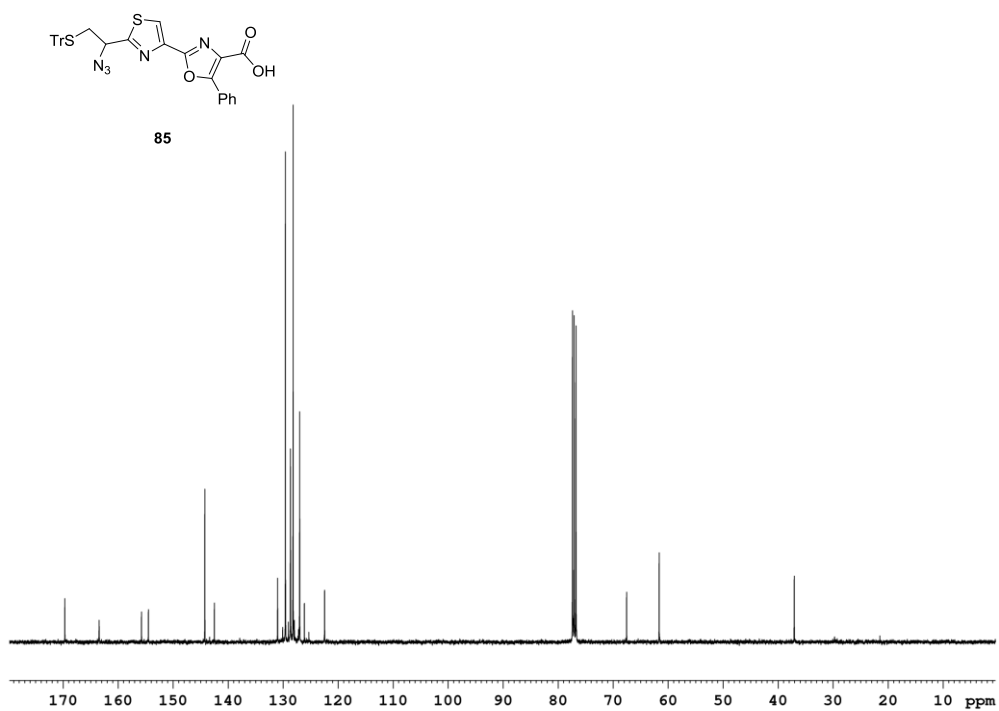


Abbildung 11.37: ^{13}C -NMR-Spektrum der Biazolcarbonsäure **85** (101 MHz, CDCl_3).

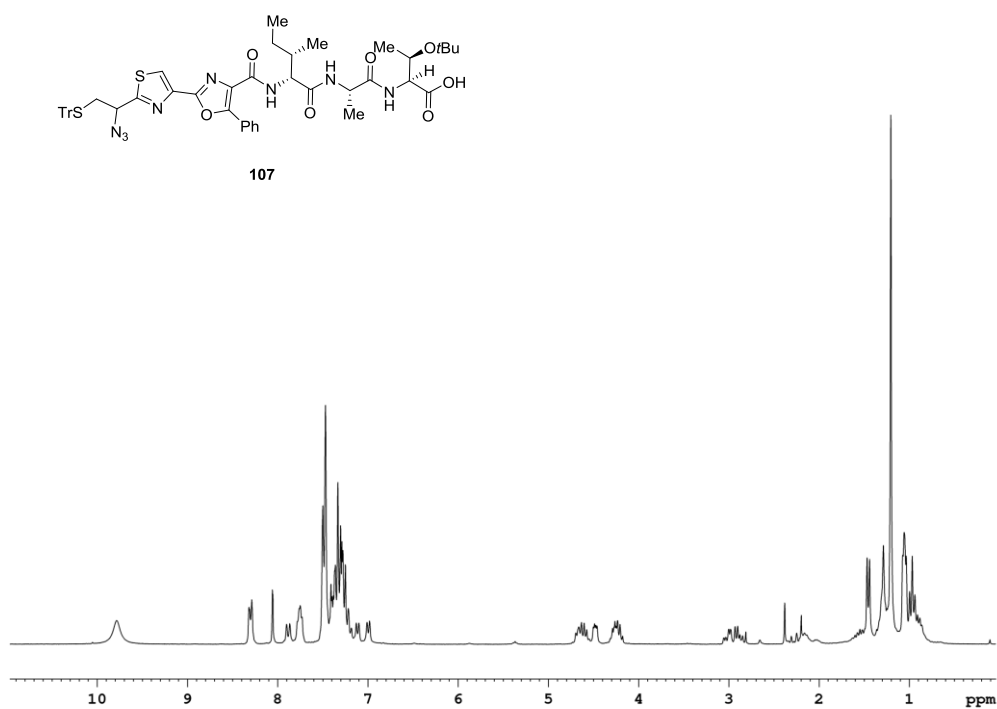


Abbildung 11.38: ^1H -NMR-Spektrum der Carbonsäure **107** (250 MHz, CDCl_3).

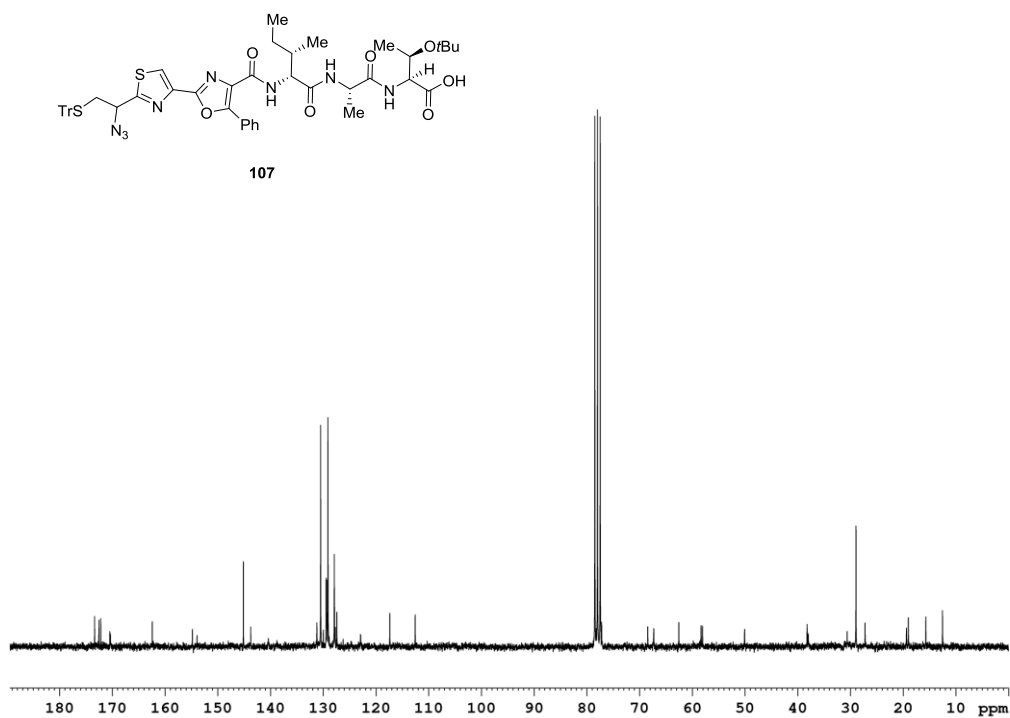


Abbildung 11.39: ^{13}C -NMR-Spektrum der Carbonsäure **107** (63 MHz, CDCl_3).

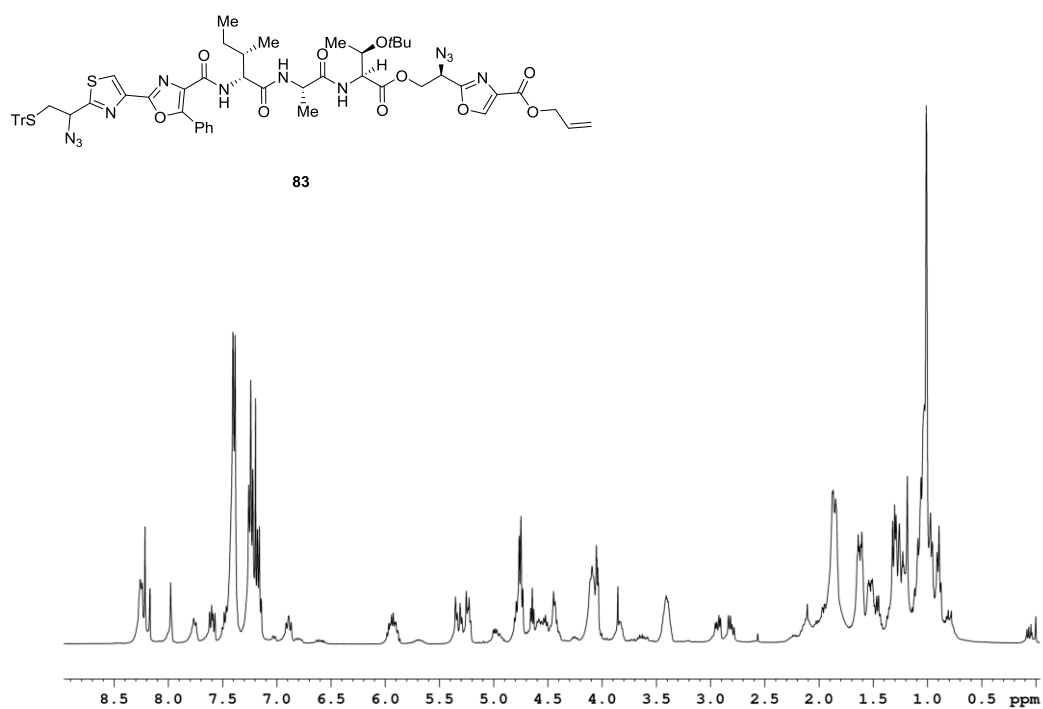


Abbildung 11.40: ¹H-NMR-Spektrum des geschützten Zyklisierungsvorläufers **83** (400 MHz, CDCl₃).

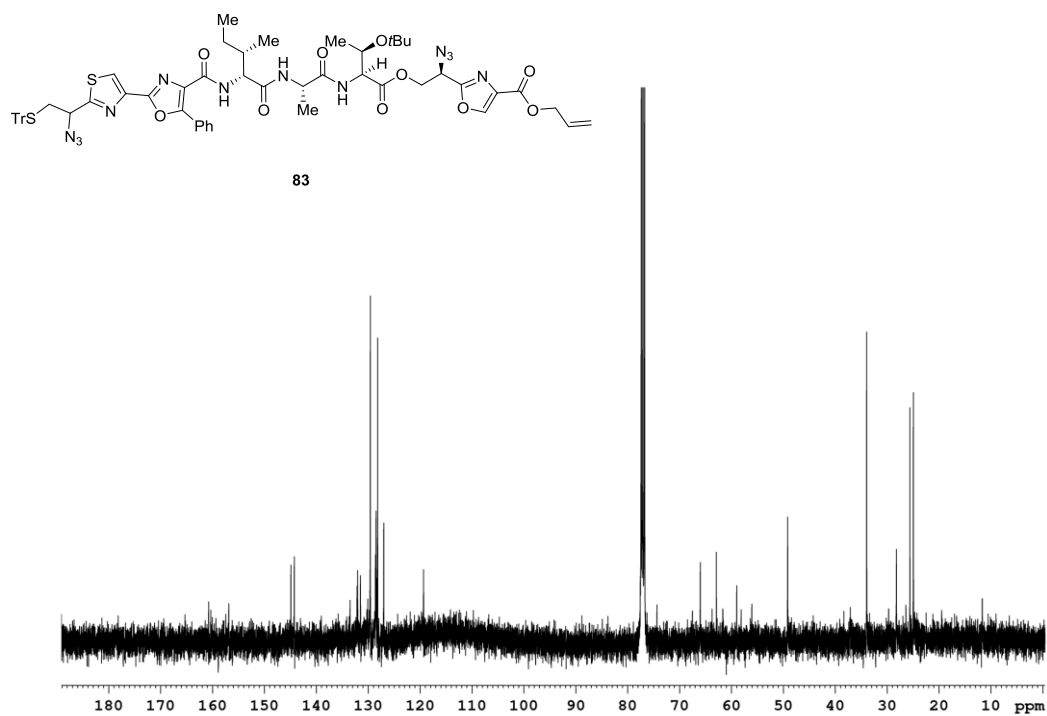


Abbildung 11.41: ¹³C-NMR-Spektrum des geschützten Zyklisierungsvorläufers **83** (101 MHz, CDCl₃).

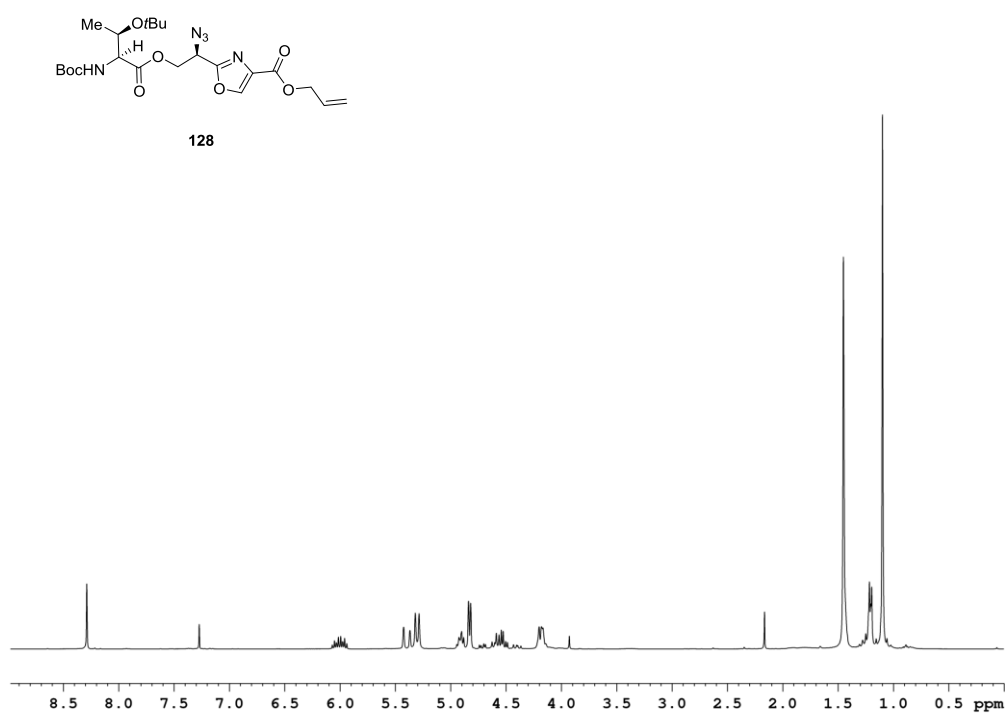


Abbildung 11.42: ^1H -NMR-Spektrum des Azidoesters **128** (300 MHz, CDCl_3).

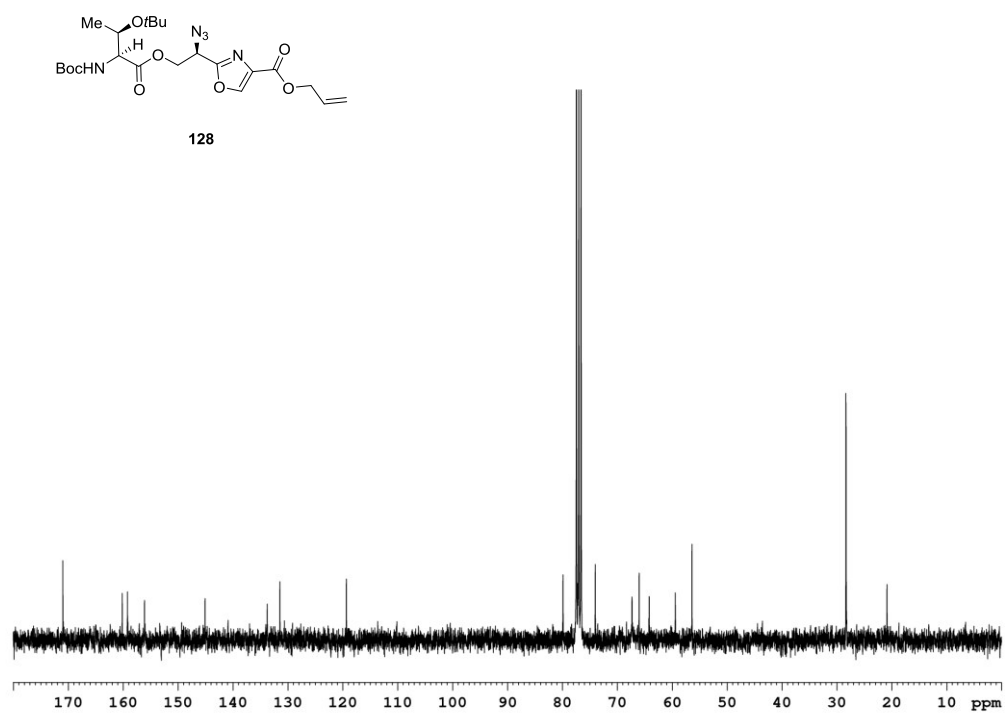


Abbildung 11.43: ^{13}C -NMR-Spektrum des Azidoesters **128** (75 MHz, CDCl_3).

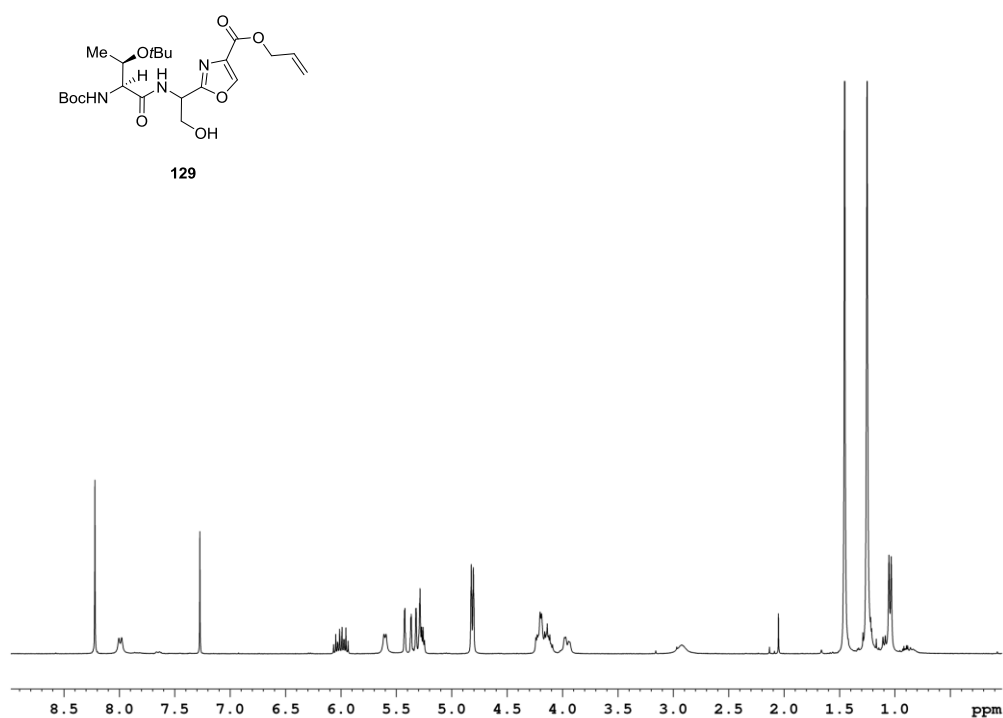


Abbildung 11.44: ^1H -NMR-Spektrum des Alkohols **129** (300 MHz, CDCl_3).

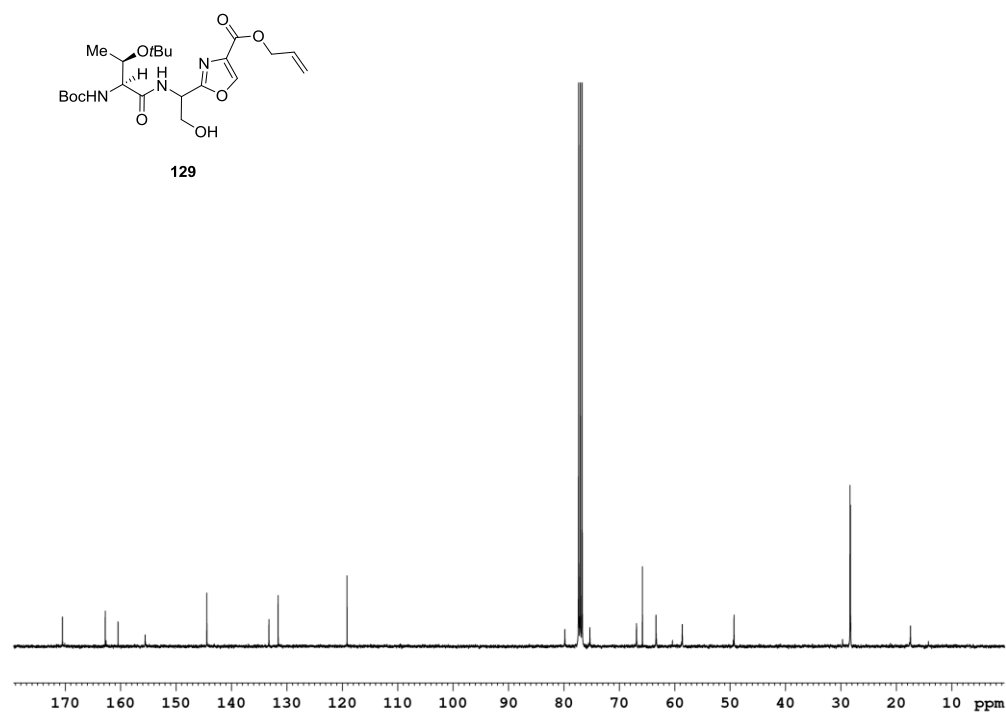


Abbildung 11.45: ^{13}C -NMR-Spektrum des Alkohols **129** (101 MHz, CDCl_3).

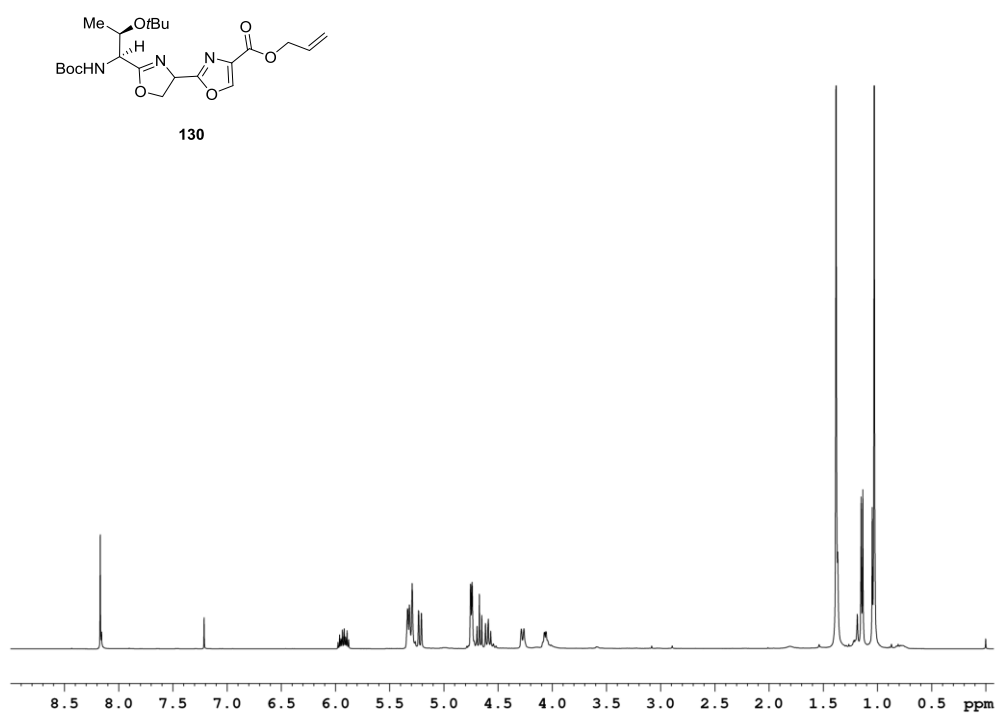


Abbildung 11.46: ^1H -NMR-Spektrum des Oxazolins **130** (400 MHz, CDCl_3).

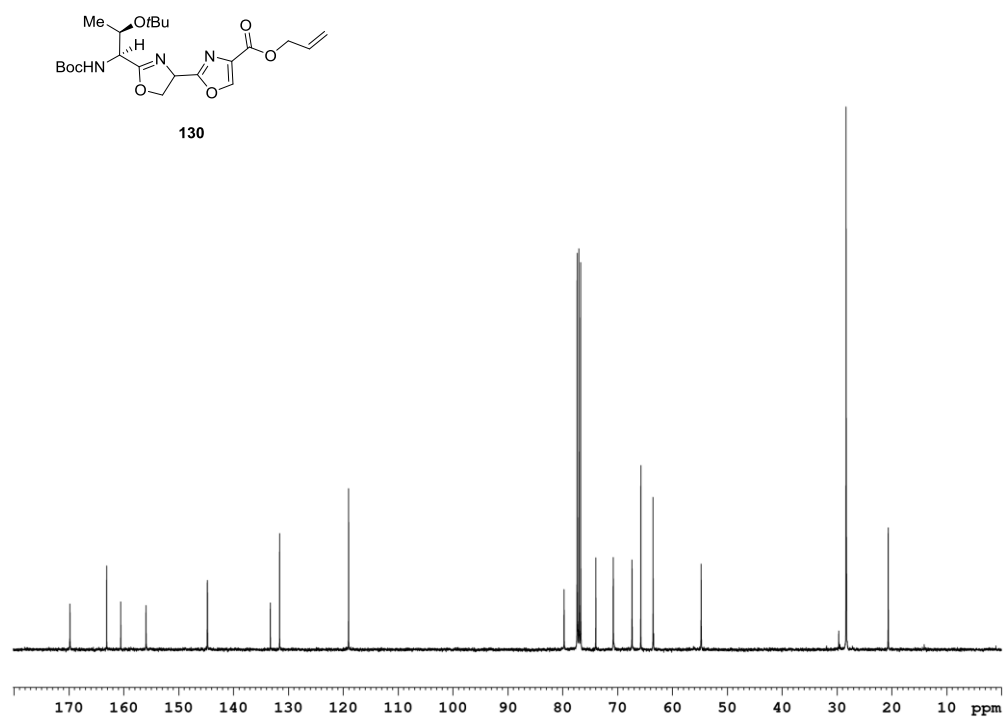


Abbildung 11.47: ^{13}C -NMR-Spektrum des Oxazolins **130** (101 MHz, CDCl_3).

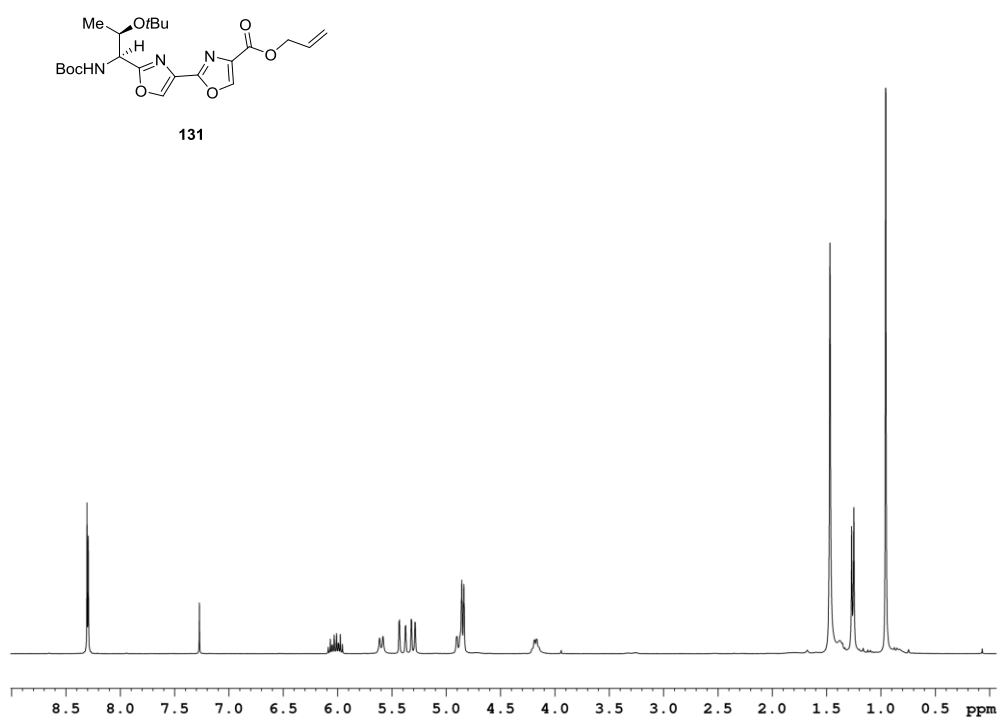


Abbildung 11.48: ¹H-NMR-Spektrum des Bioxazols **131** (300 MHz, CDCl₃).

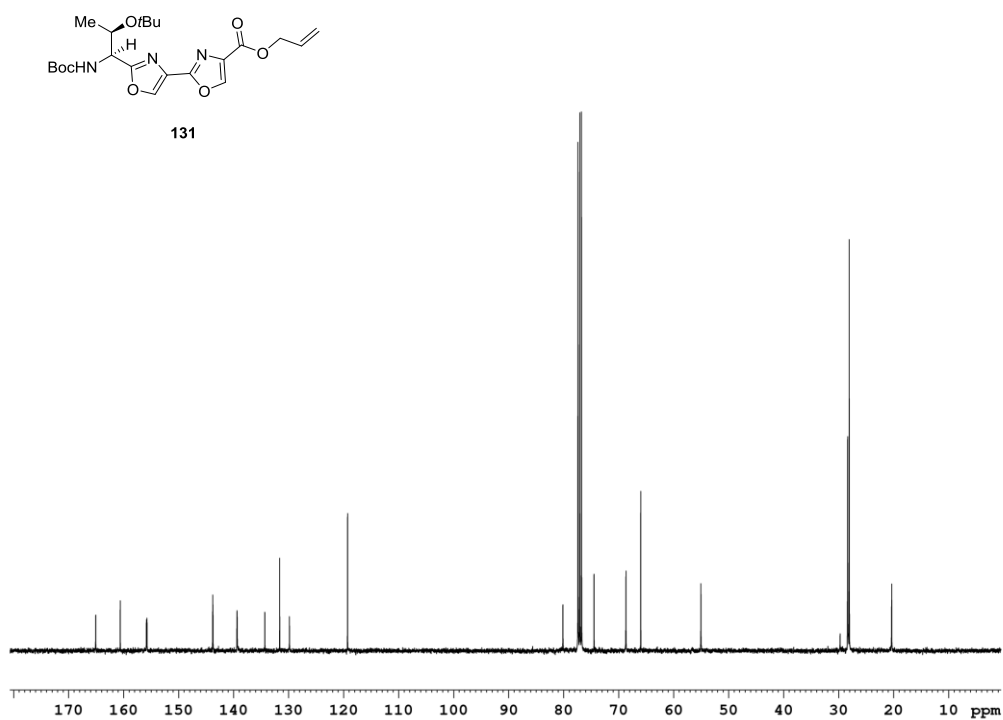


Abbildung 11.49: ¹³C-NMR-Spektrum des Bioxazols **131** (101 MHz, CDCl₃).

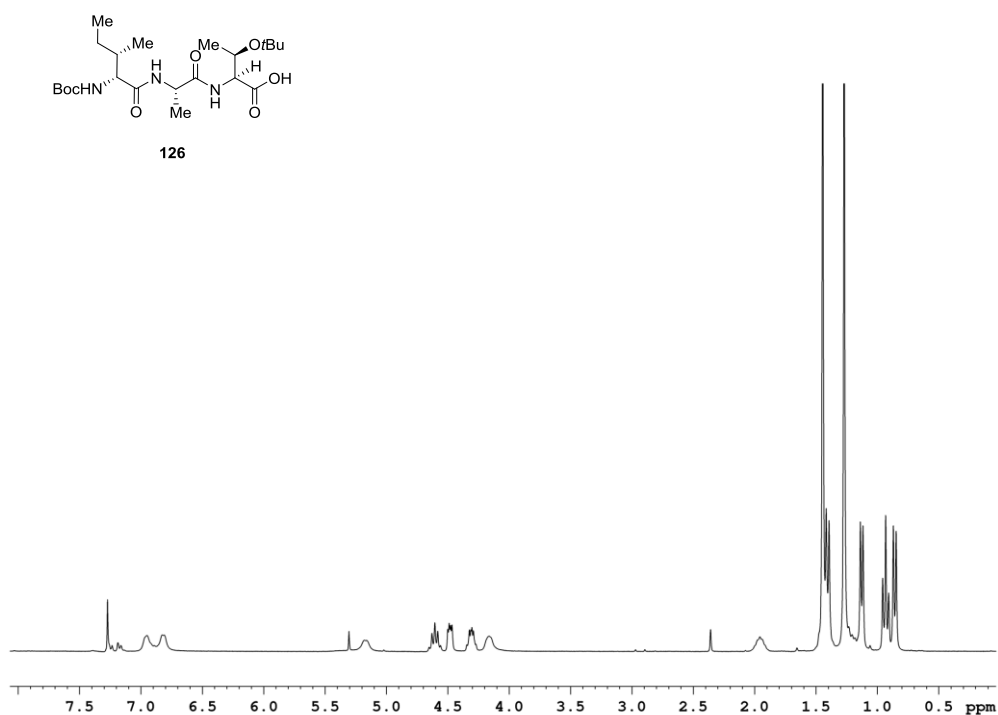


Abbildung 11.50: ^1H -NMR-Spektrum des Tripeptids **126** (300 MHz, CDCl_3).

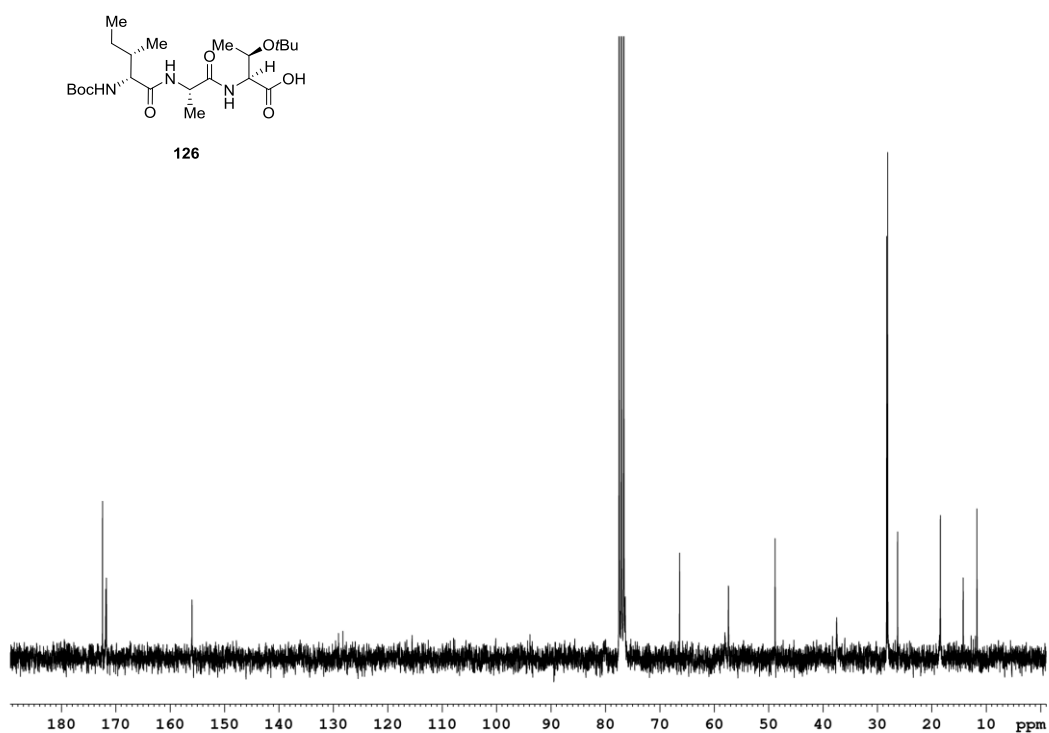


Abbildung 11.51: ^{13}C -NMR-Spektrum des Tripeptids **126** (75 MHz, CDCl_3).

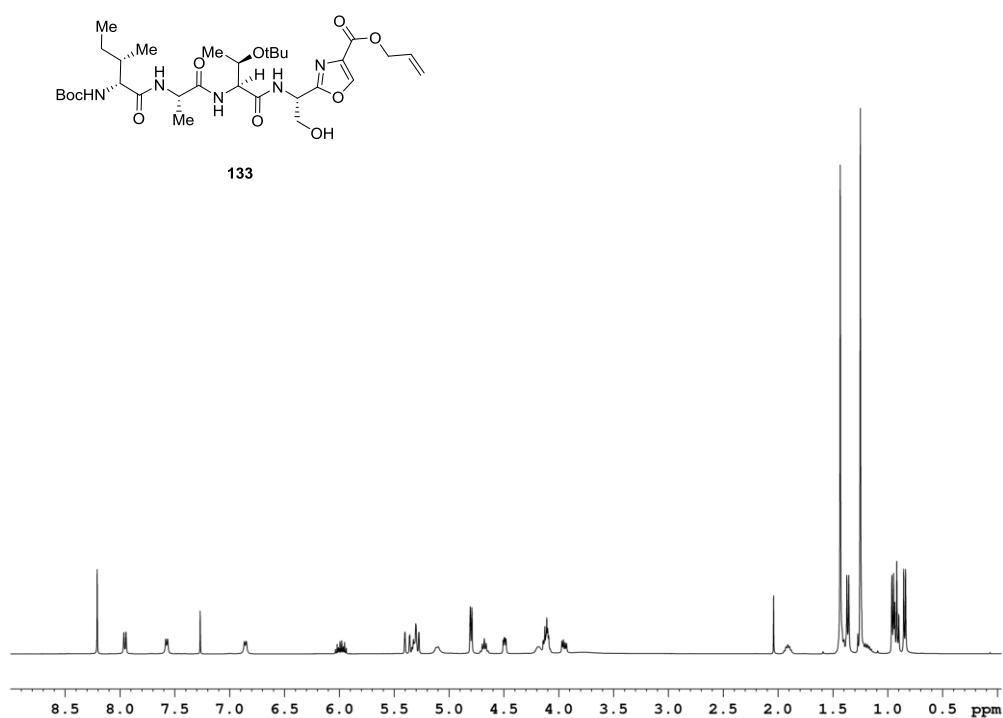


Abbildung 11.52: ^1H -NMR-Spektrum des *L*-Threonin-Oxazols **133** (400 MHz, CDCl_3).

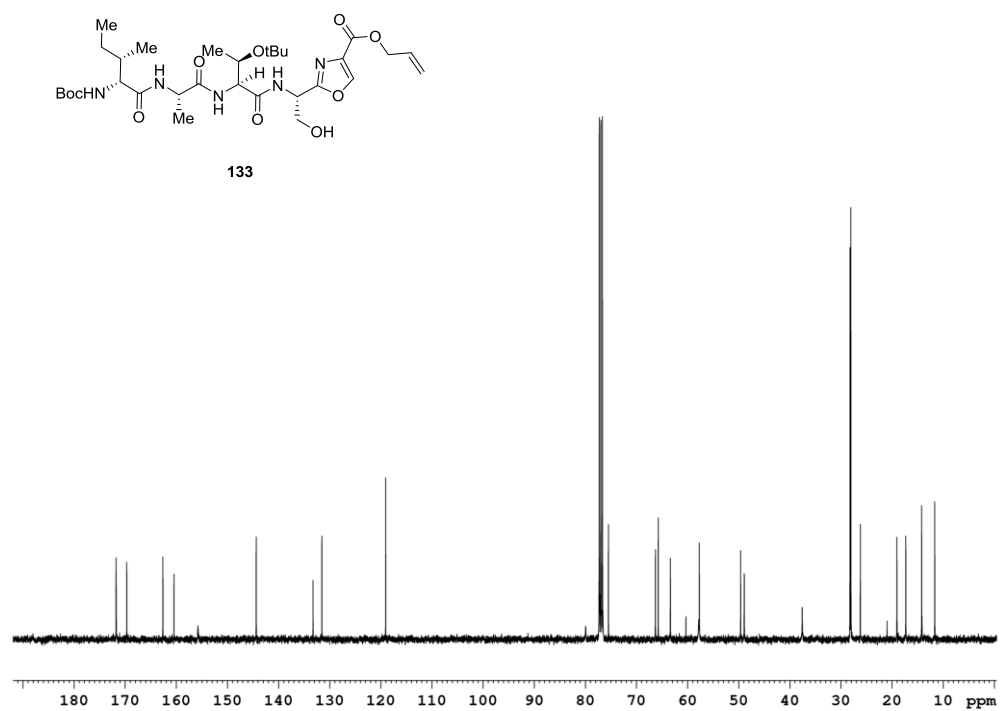


Abbildung 11.53: ^{13}C -NMR-Spektrum des *L*-Threonin-Oxazols **133** (101 MHz, CDCl_3).

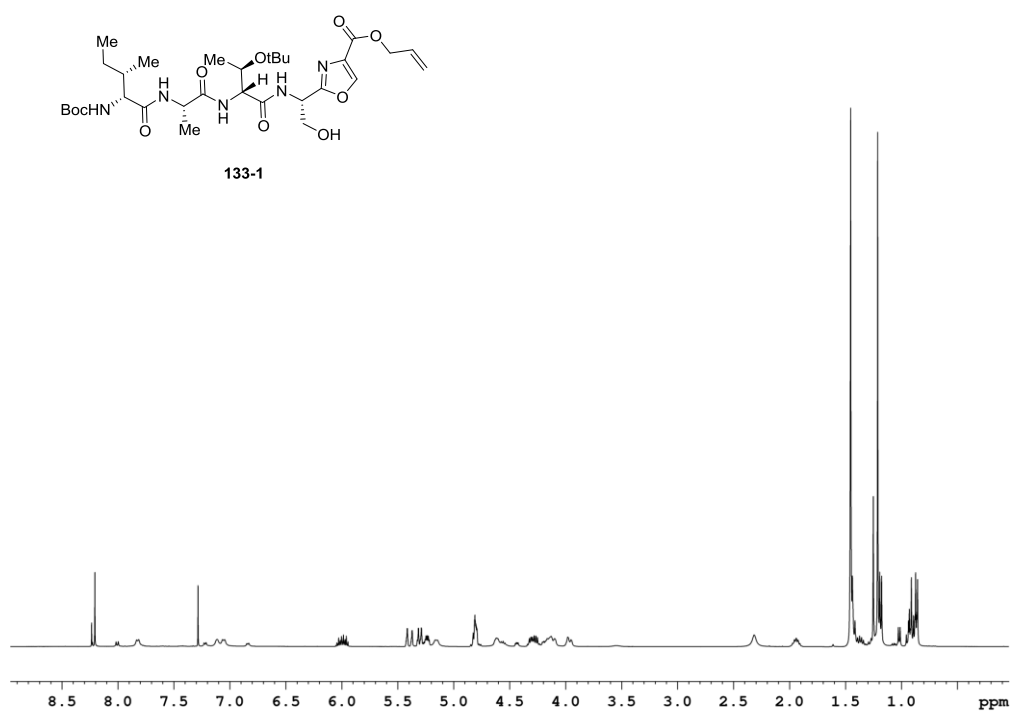


Abbildung 11.54: ^1H -NMR-Spektrum des zu *D*-allo-Threonin-Oxazols **133-1** (400 MHz, CDCl_3).

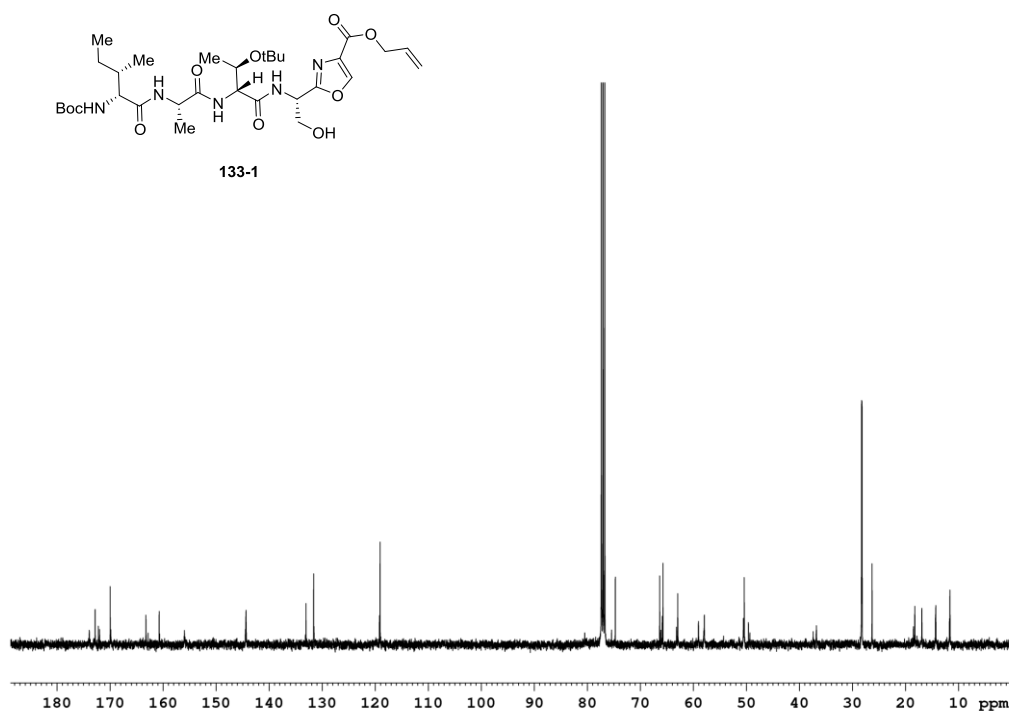


Abbildung 11.55: ^{13}C -NMR-Spektrum des zu *D*-allo-Threonin-Oxazols **133-1** (101 MHz, CDCl_3).

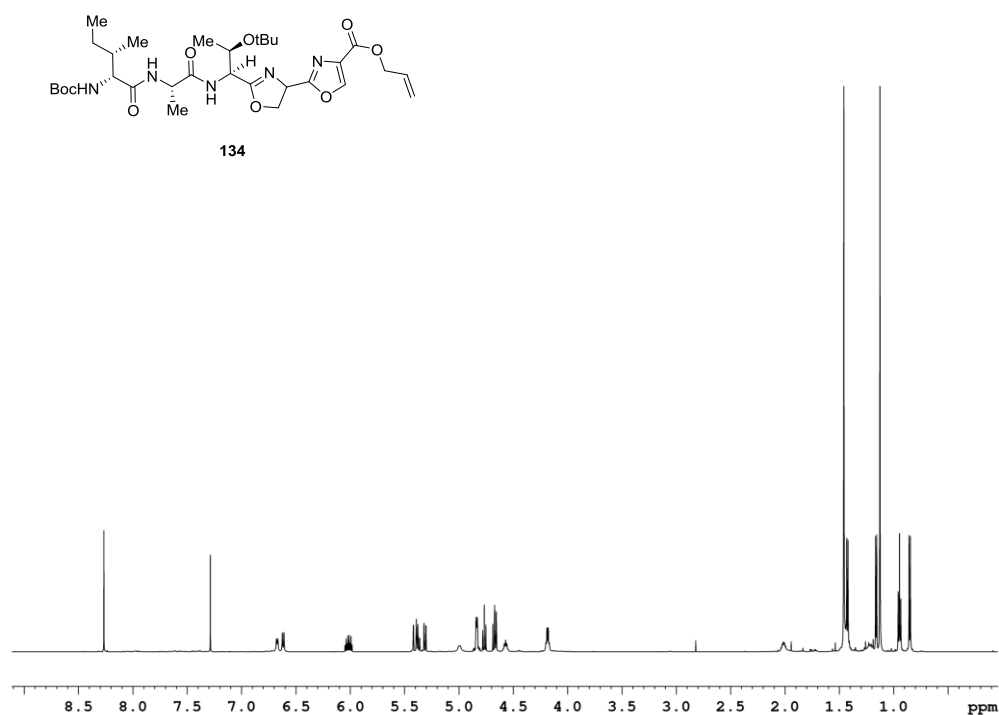


Abbildung 11.56: ^1H -NMR-Spektrum des Oxazolins **134** (600 MHz, CDCl_3).

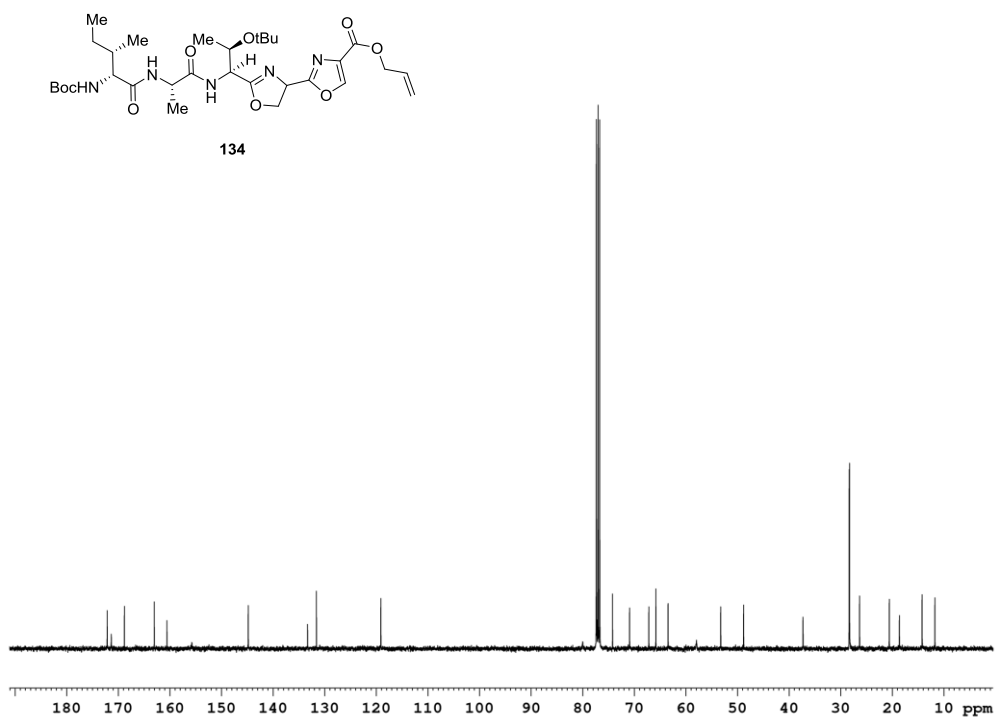


Abbildung 11.57: ^{13}C -NMR-Spektrum des Oxazolins **134** (101 MHz, CDCl_3).

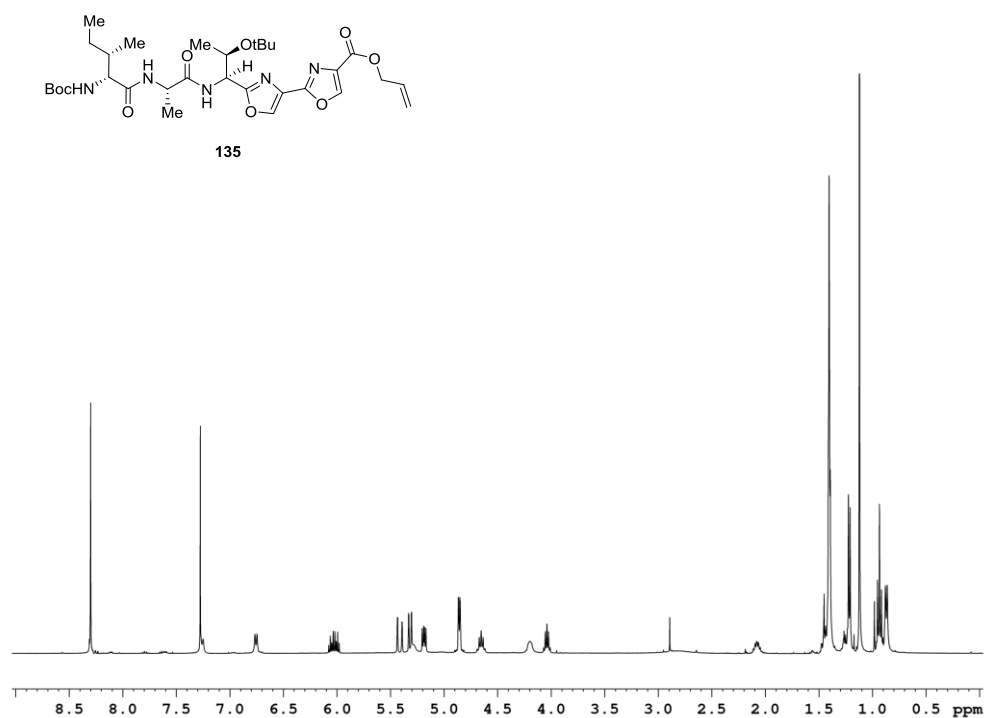


Abbildung 11.58: ^1H -NMR-Spektrum des Bioxazols **135** (400 MHz, CDCl_3).

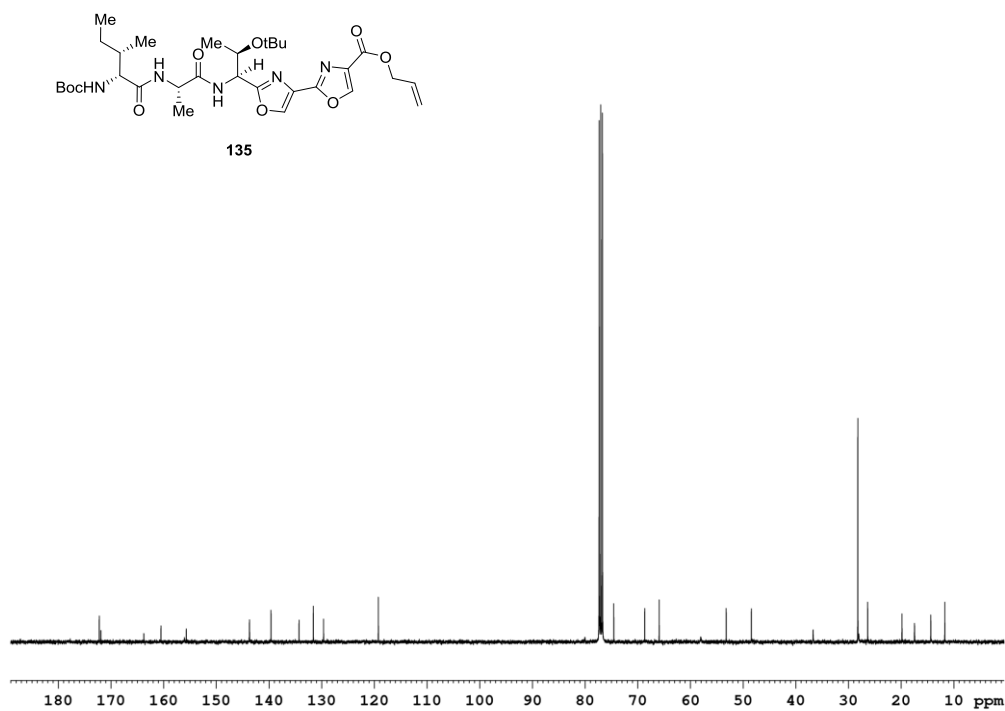


Abbildung 11.59: ^{13}C -NMR-Spektrum des Bioxazols **135** (101 MHz, CDCl_3).

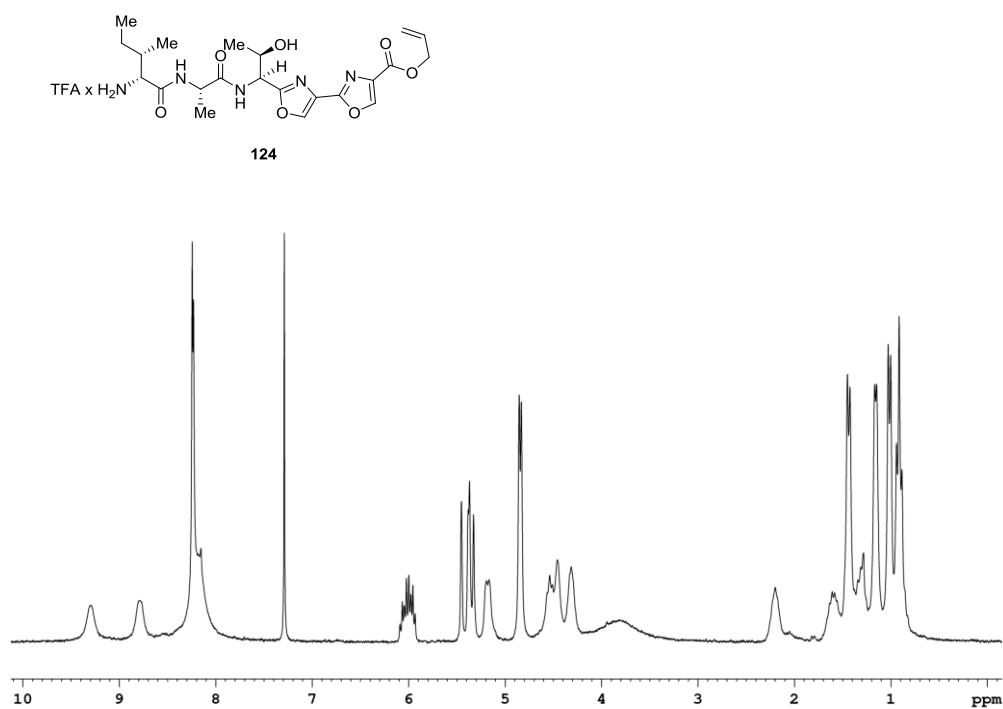


Abbildung 11.60: ^1H -NMR-Spektrum des Ammoniumsalzes **124** (250 MHz, CDCl_3).

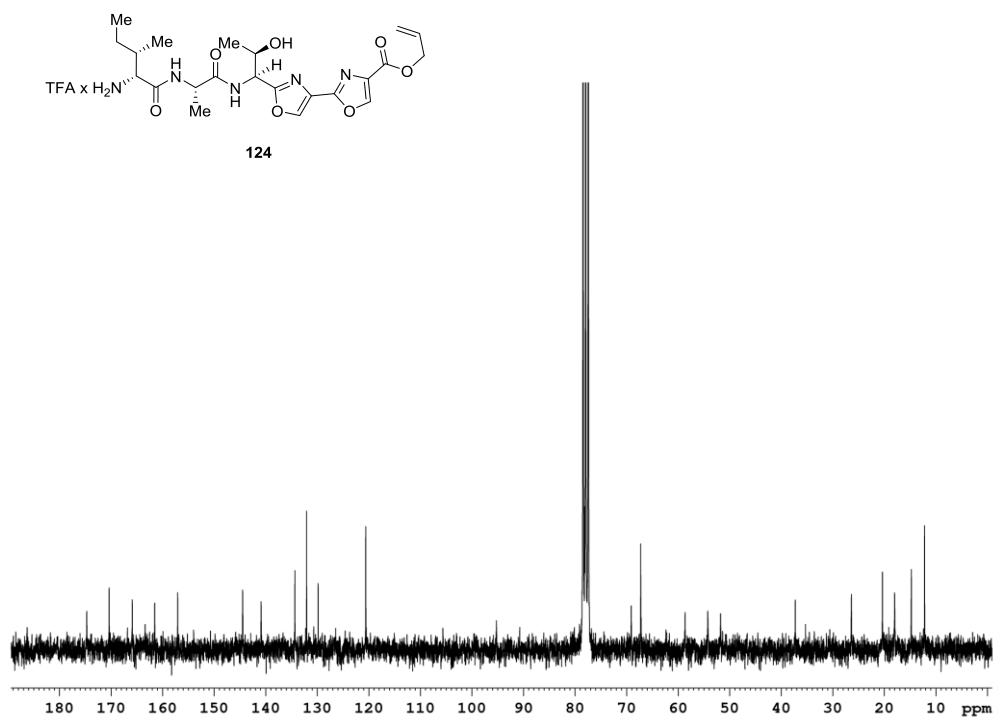


Abbildung 11.61: ^{13}C -NMR-Spektrum des Ammoniumsalzes **124** (63 MHz, CDCl_3).

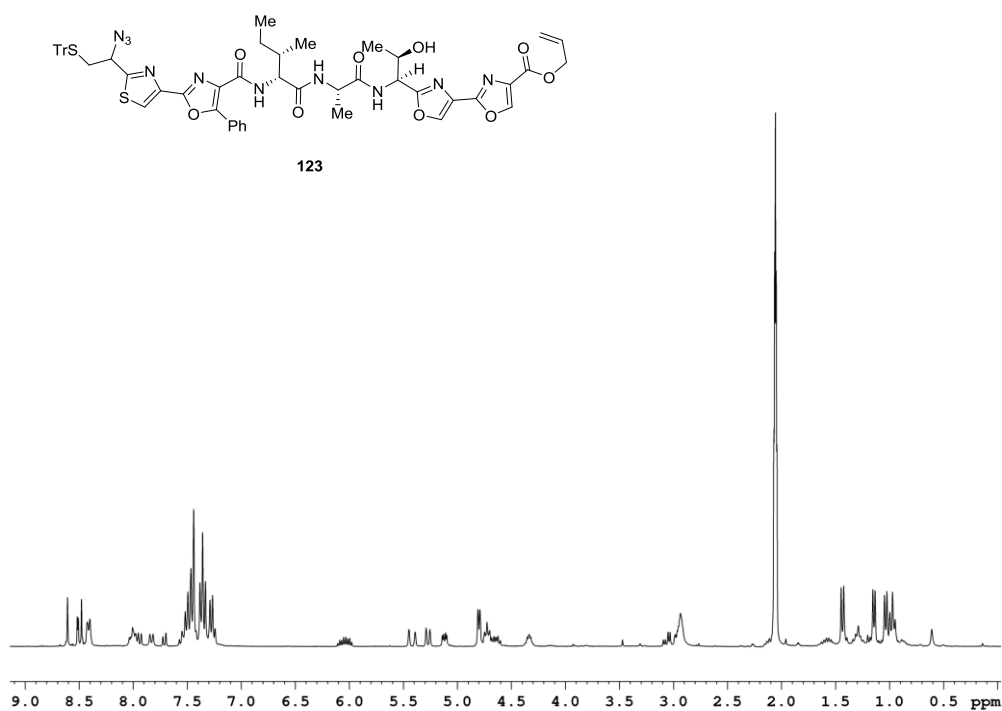


Abbildung 11.62: ^1H -NMR-Spektrum des geschützten Zyklisierungsvorläufers **123** (300 MHz, Aceton- d_6).

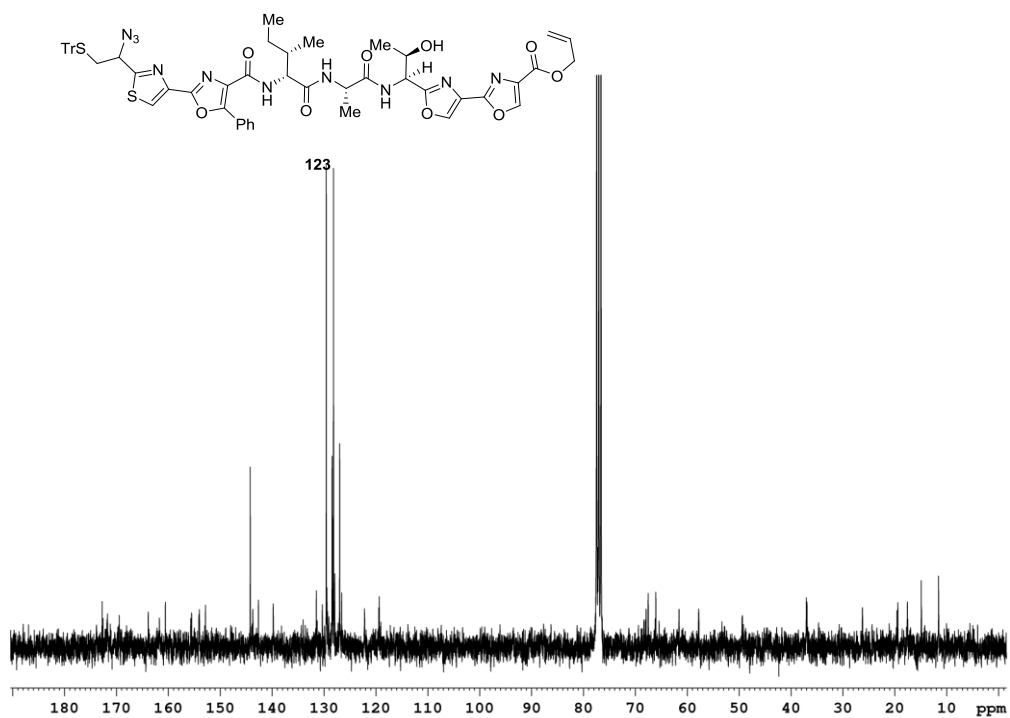


Abbildung 11.63: ^{13}C -NMR-Spektrum des geschützten Zyklisierungsvorläufers **123** (75 MHz, CDCl_3).

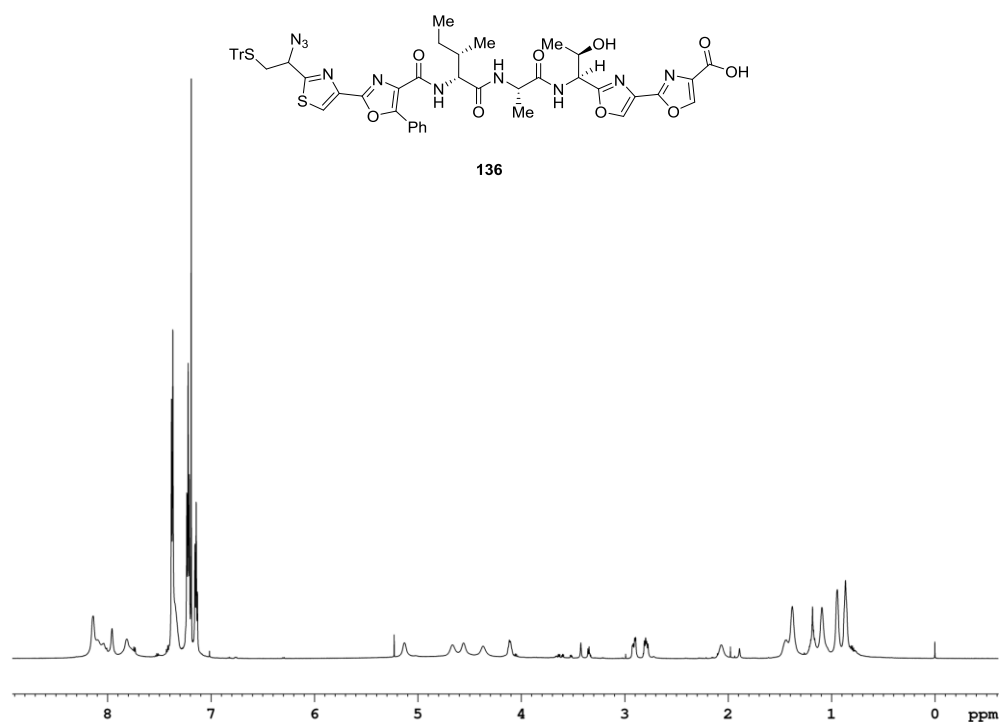


Abbildung 11.64: ^1H -NMR-Spektrum der Carbonsäure **136** (600 MHz, CDCl_3).

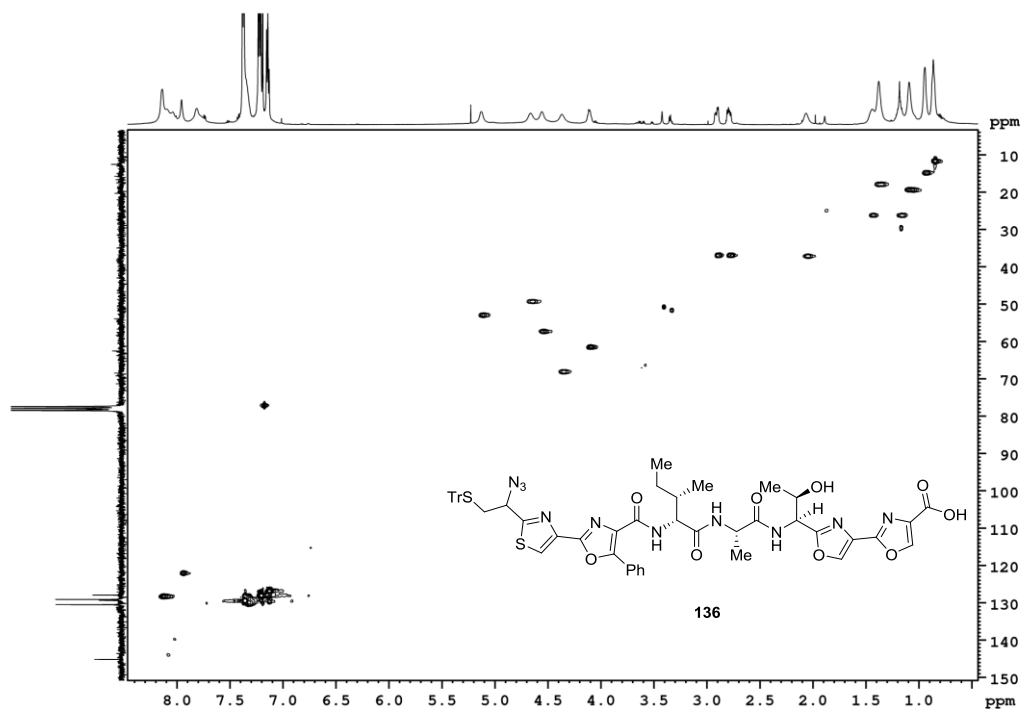


Abbildung 11.65: HSQC-NMR-Spektrum der Carbonsäure **136** (600 MHz/150 MHz, CDCl_3).

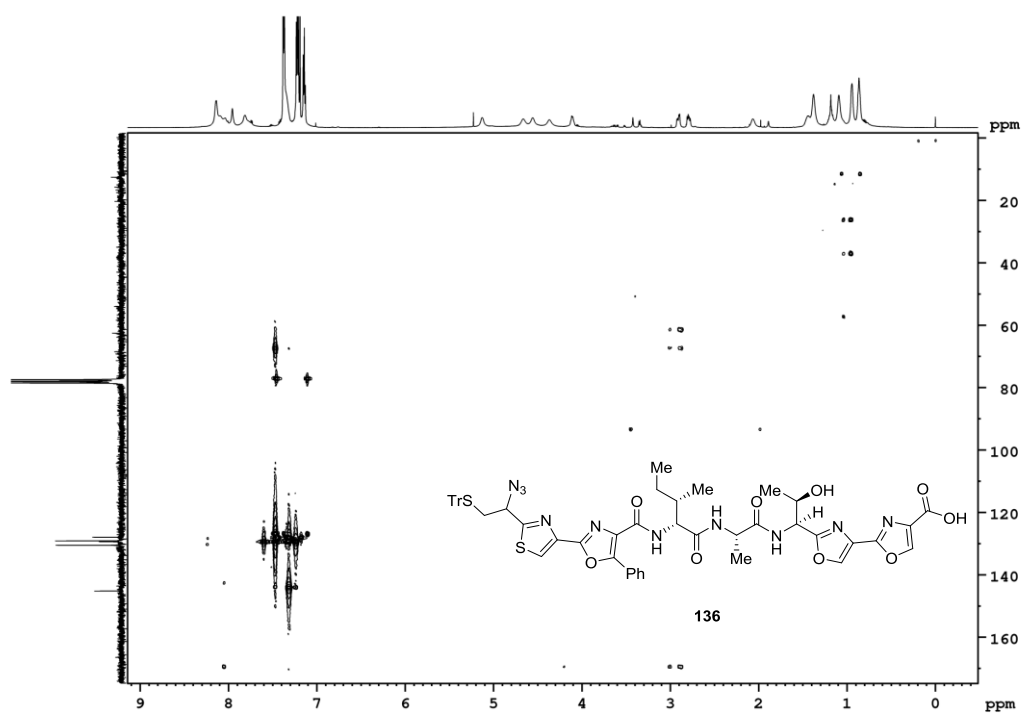


Abbildung 11.66: HMBC-NMR-Spektrum der Carbonsäure **136** (600 MHz/150 MHz, CDCl_3).

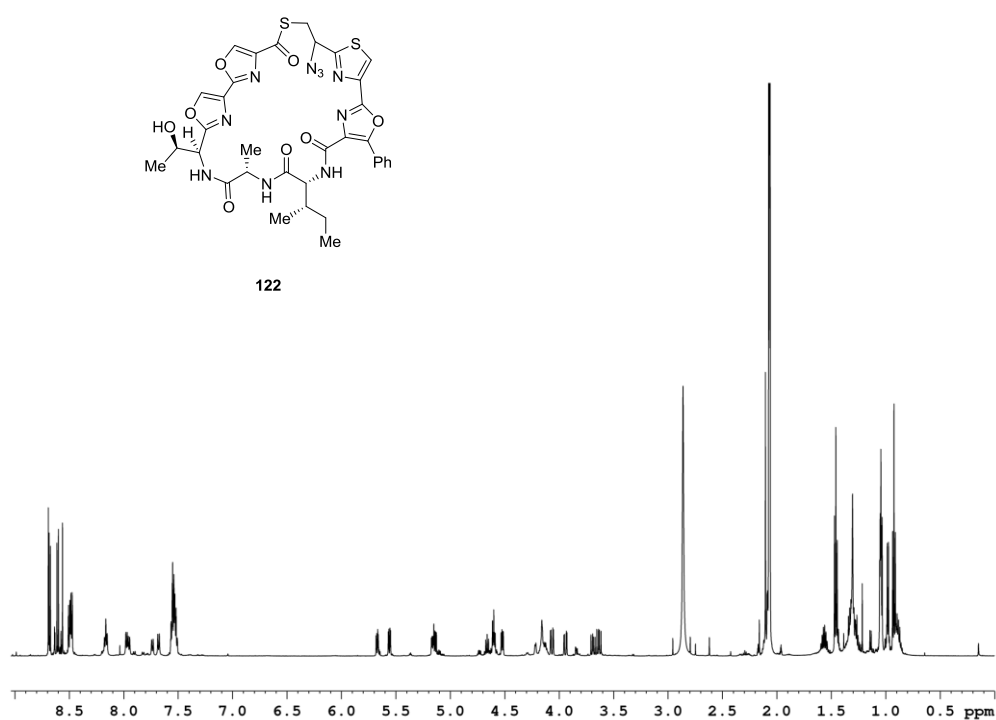


Abbildung 11.67: ¹H-NMR-Spektrum des Makrothiolactons **122** (600 MHz, Aceton-d₆).

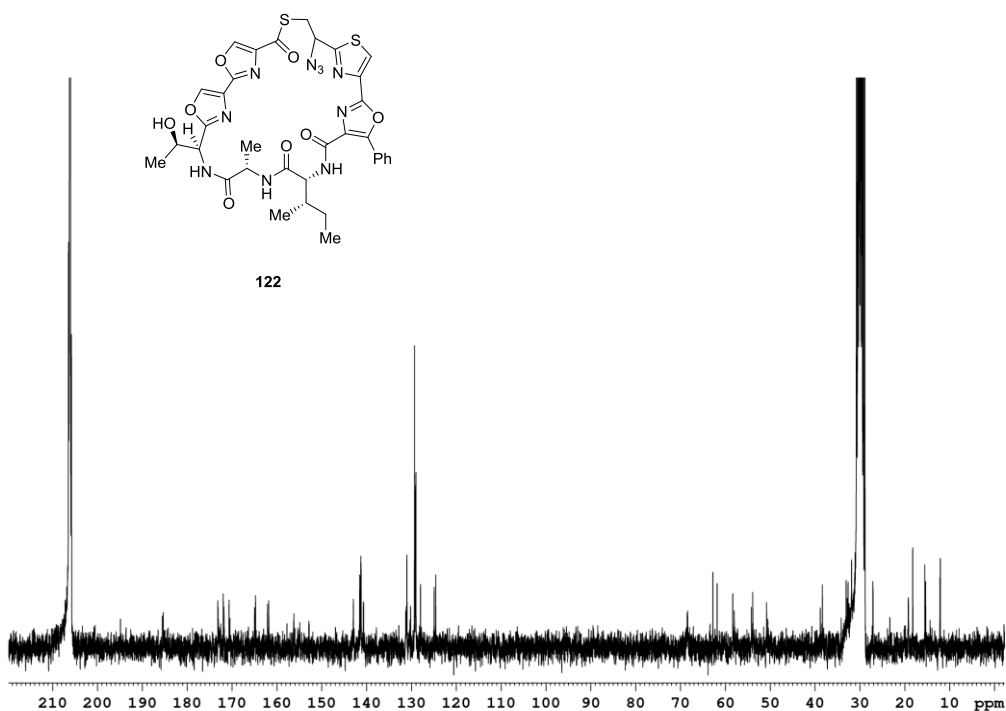


Abbildung 11.68: ¹³C-NMR-Spektrum des Makrothiolactons **122** (63 MHz, Aceton-d₆).

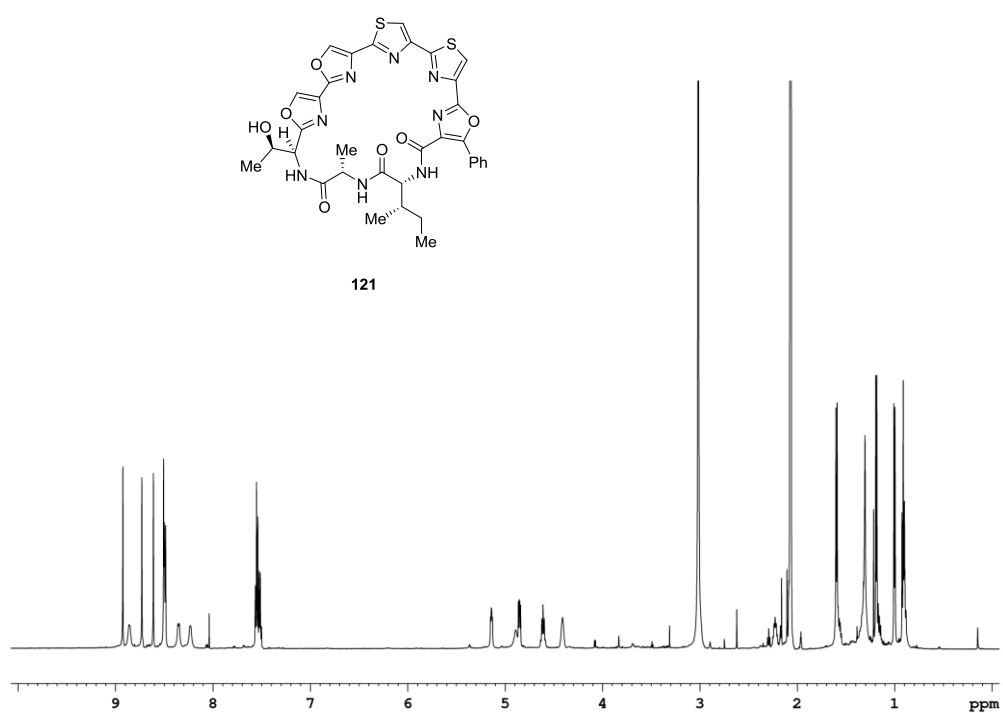


Abbildung 11.69: ^1H -NMR-Spektrum des makrozyklischen Pentaazols **121** (600 MHz, Aceton- d_6).

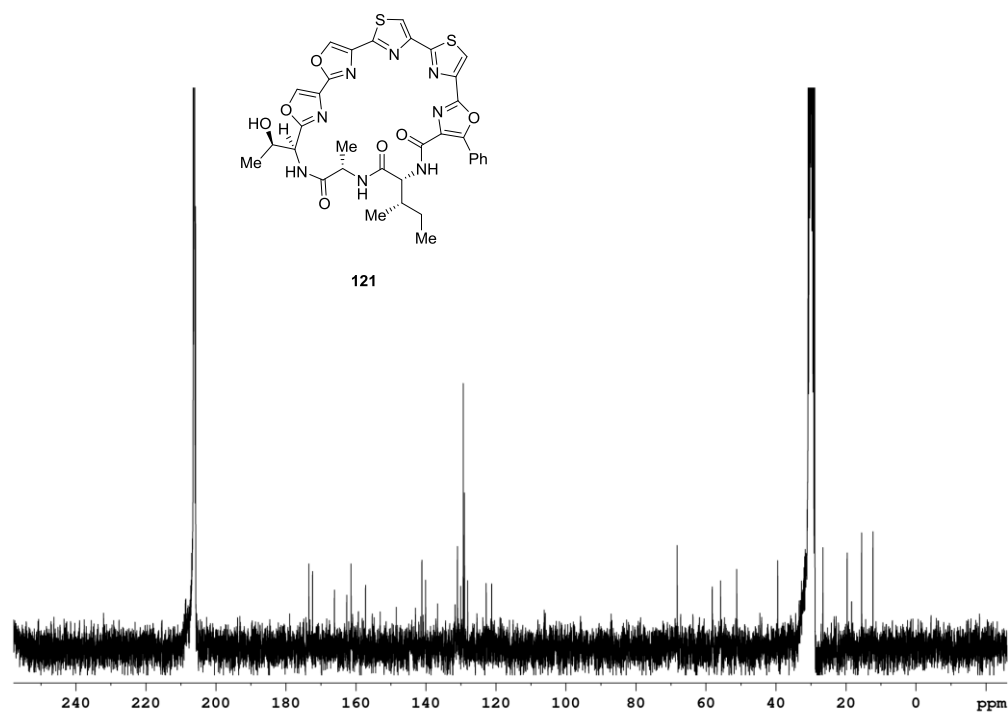


Abbildung 11.70: ^{13}C -NMR-Spektrum des makrozyklischen Pentaazols **121** (63 MHz, Aceton- d_6).

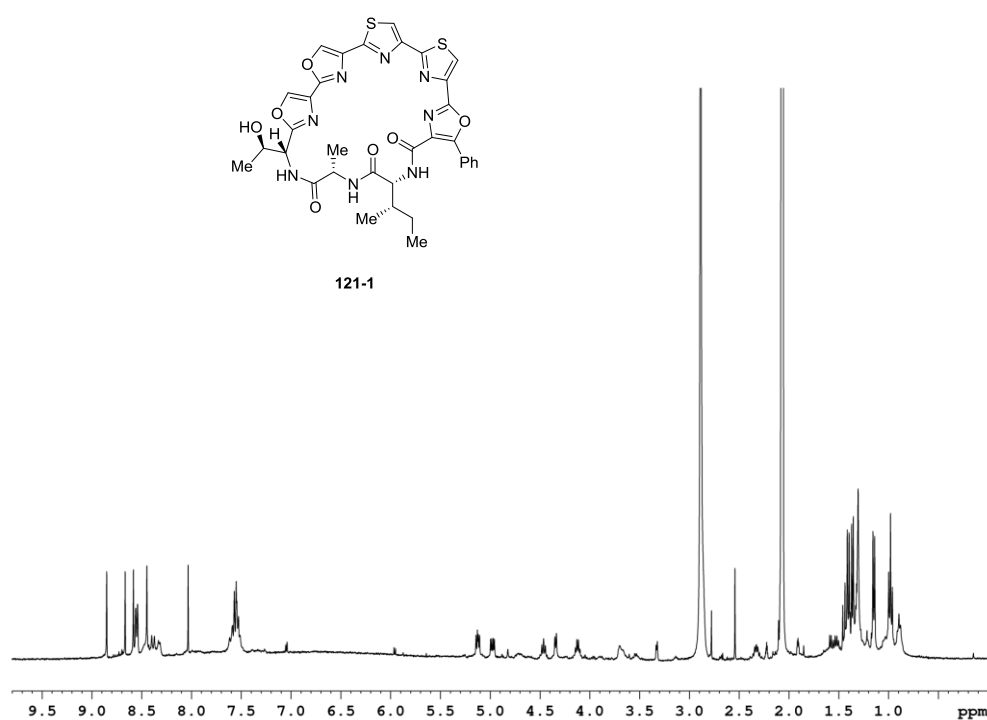


Abbildung 11.71: ^1H -NMR-Spektrum des Epimers **121-1** (400 MHz, Aceton- d_6).

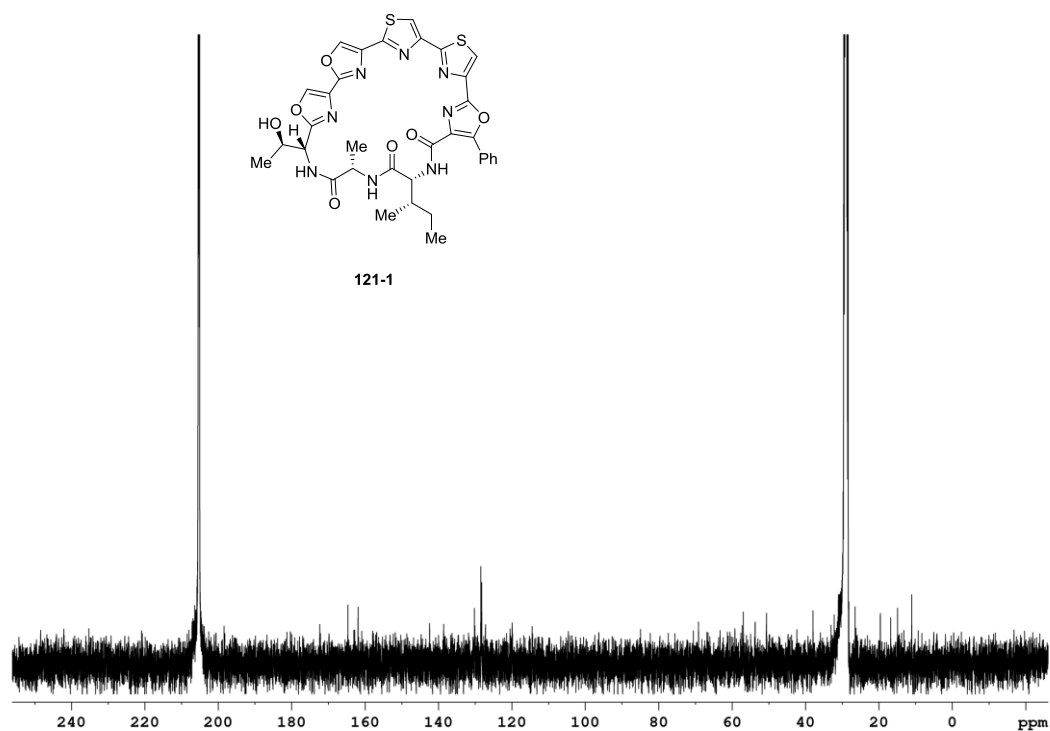


Abbildung 11.72: ^{13}C -NMR-Spektrum des Epimers **121-1** (101 MHz, Aceton- d_6).

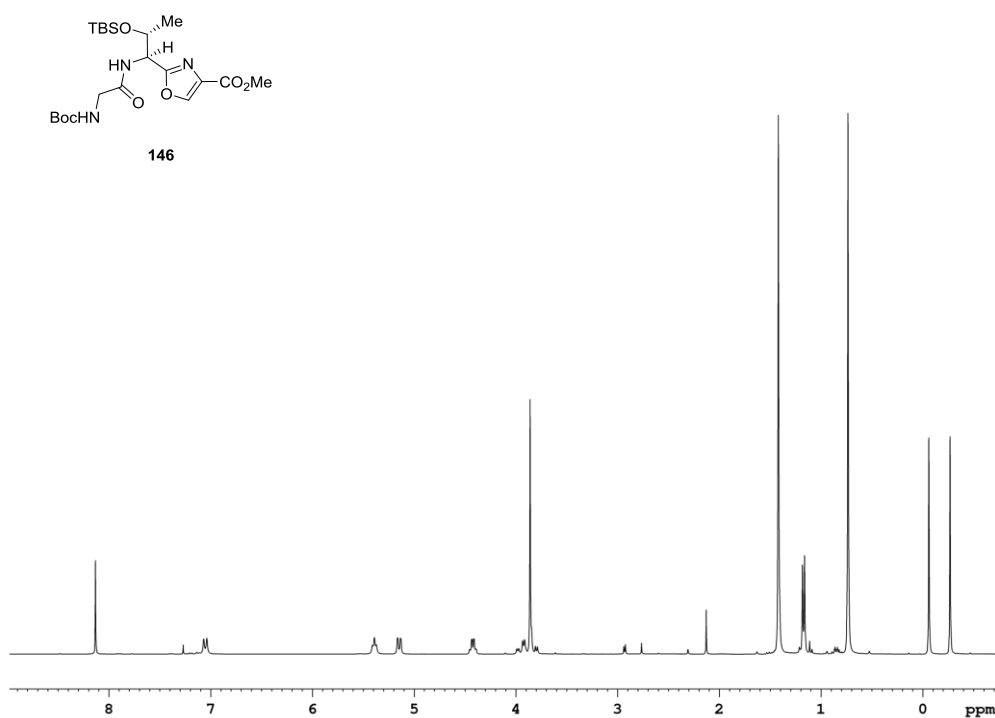


Abbildung 11.73: ^1H -NMR-Spektrum des Oxazols **146** (300 MHz, CDCl_3).

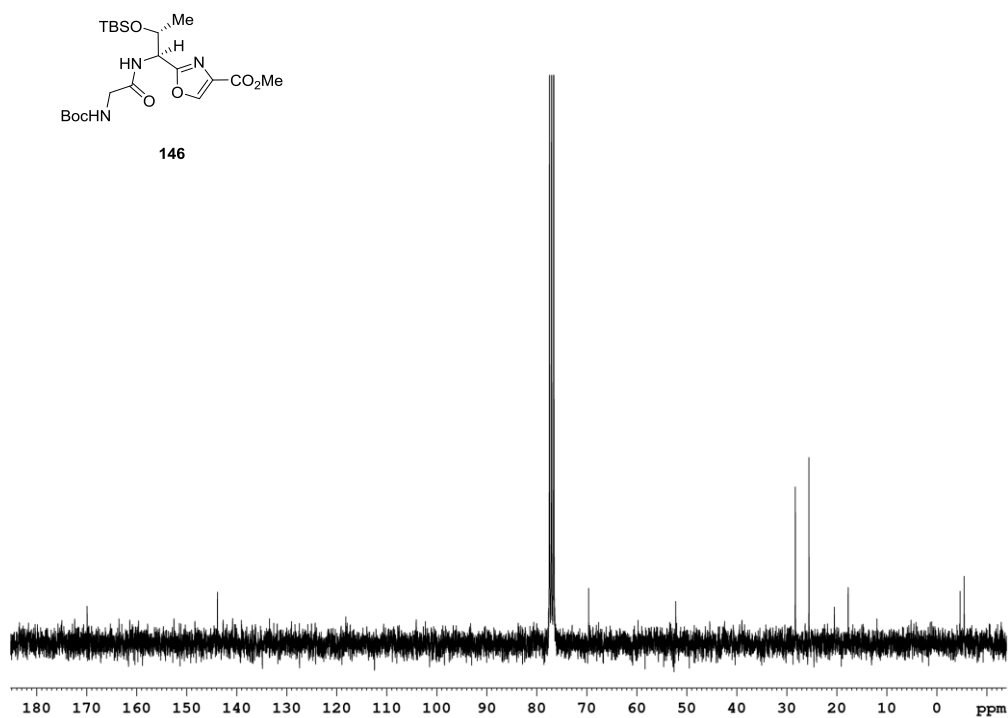


Abbildung 11.74: ^{13}C -NMR-Spektrum des Oxazols **146** (75 MHz, CDCl_3).

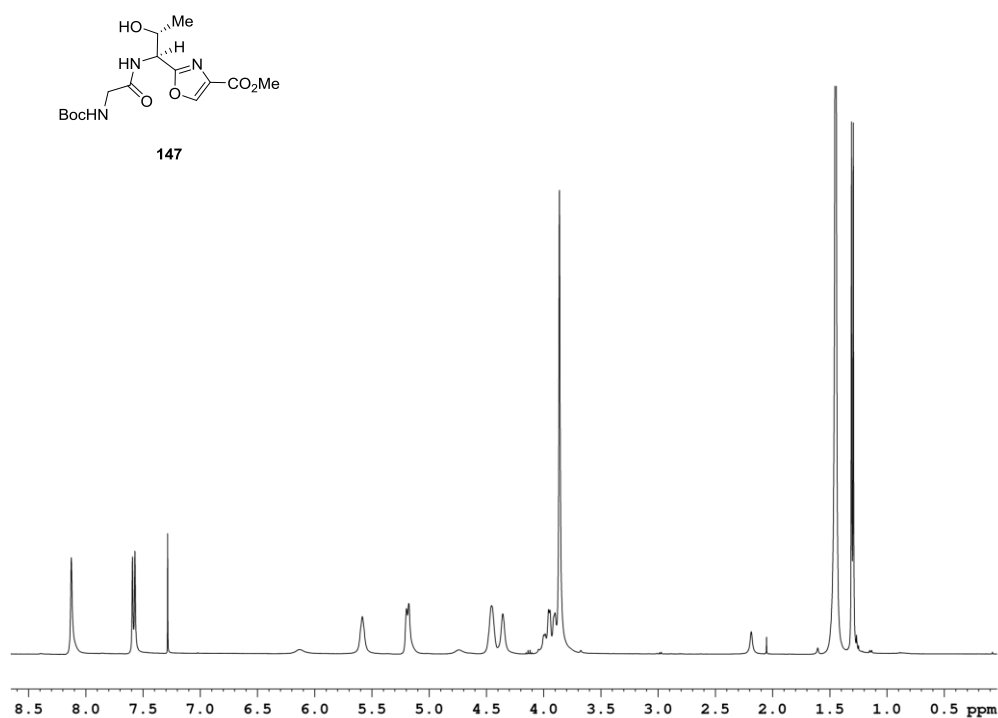


Abbildung 11.75: ^1H -NMR-Spektrum des Alkohols **147** (400 MHz, CDCl_3).

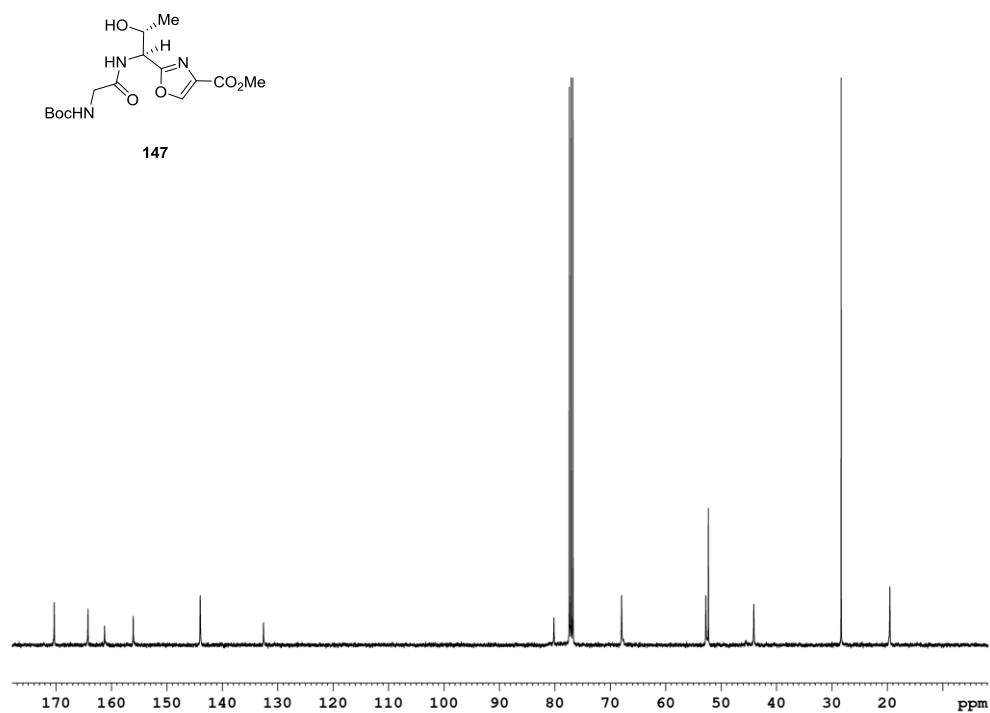


Abbildung 11.76: ^{13}C -NMR-Spektrum des Alkohols **147** (101 MHz, CDCl_3).

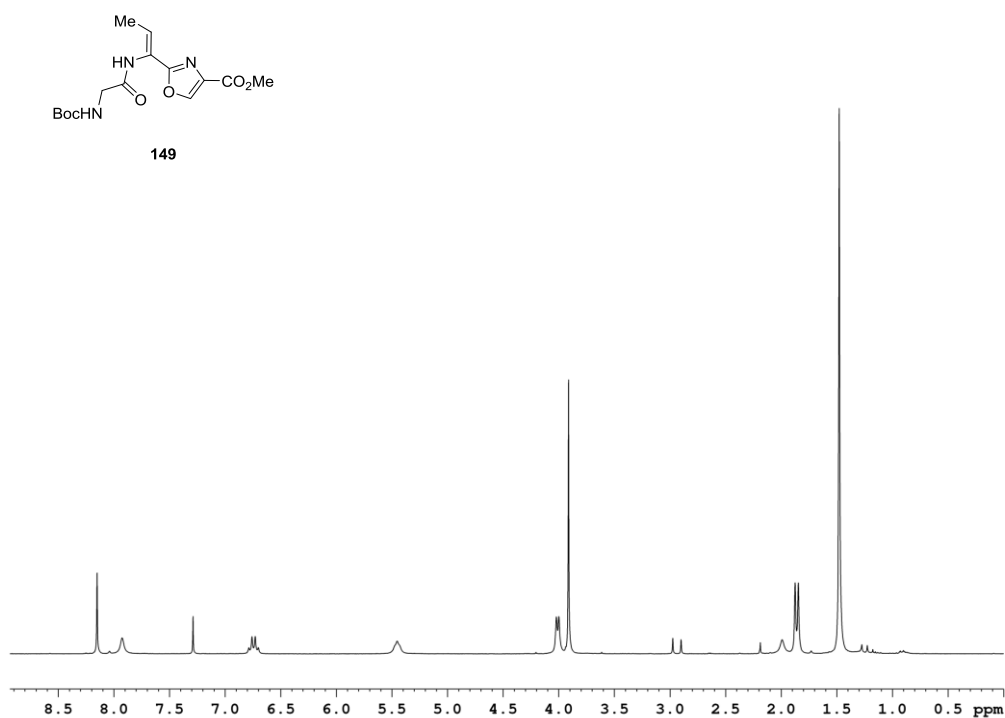


Abbildung 11.77: ¹H-NMR-Spektrum des Z-Enamids **149** (250 MHz, CDCl₃).

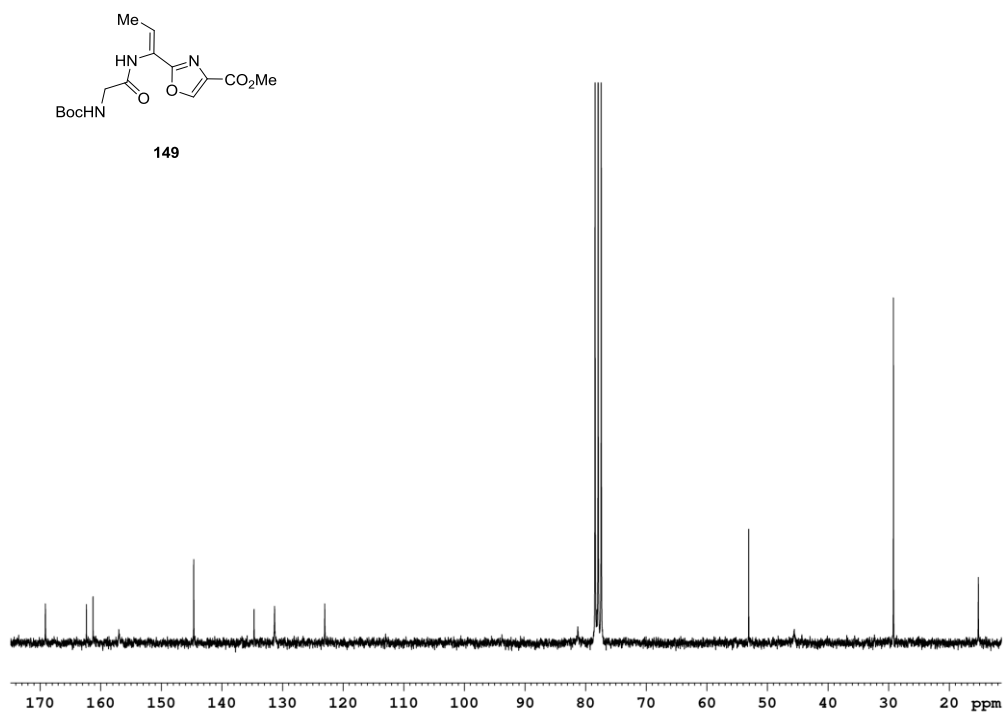


Abbildung 11.78: ¹³C-NMR-Spektrum des Z-Enamids **149** (63 MHz, CDCl₃).

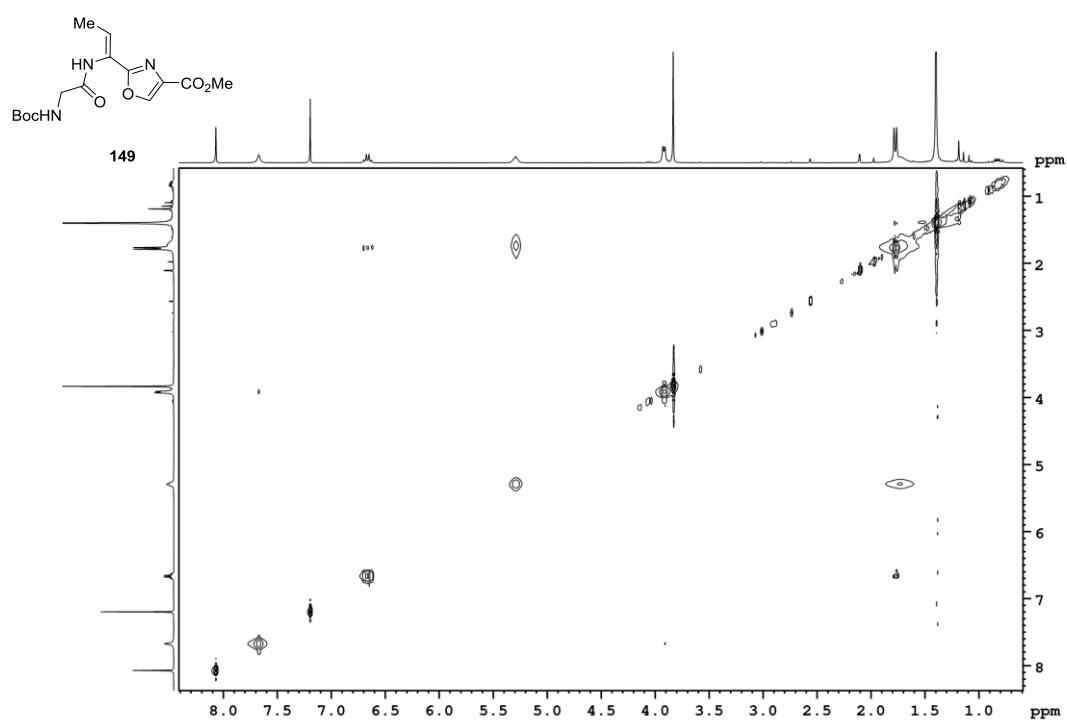
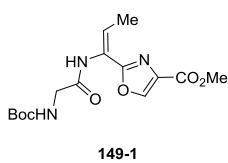
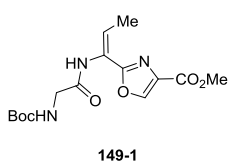


Abbildung 11.79: NOESY-NMR-Spektrum des *Z*-Enamids **149** (300 MHz/300 MHz, CDCl₃).



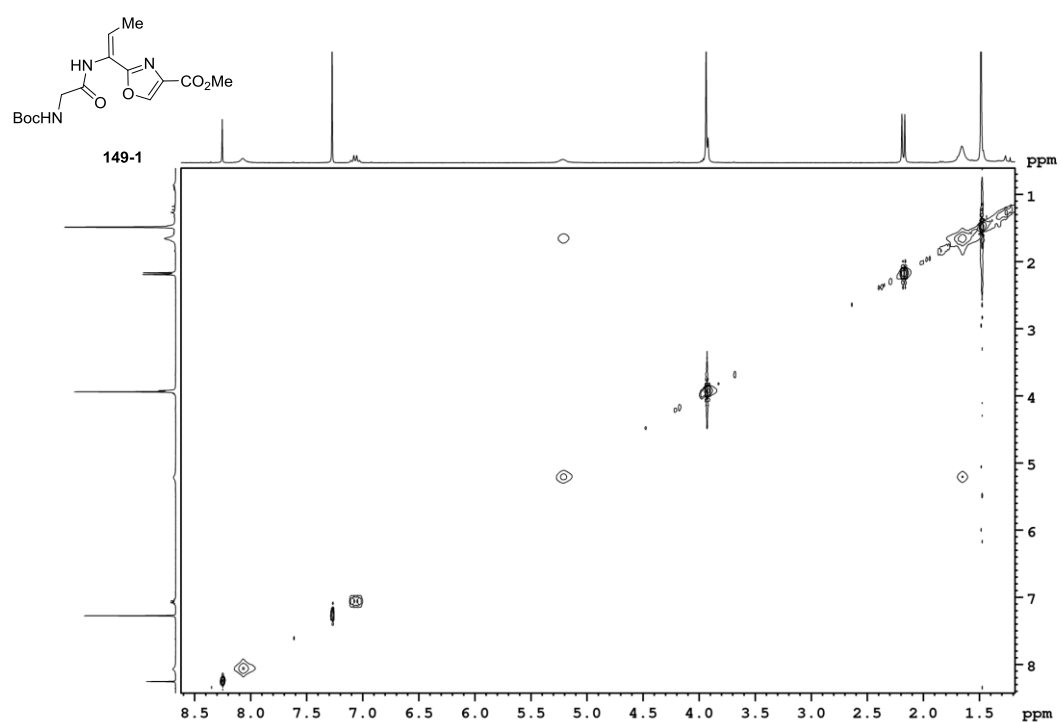


Abbildung 11.82: NOESY-NMR-Spektrum des *E*-Enamids **149-1** (300 MHz/300 MHz, CDCl₃).

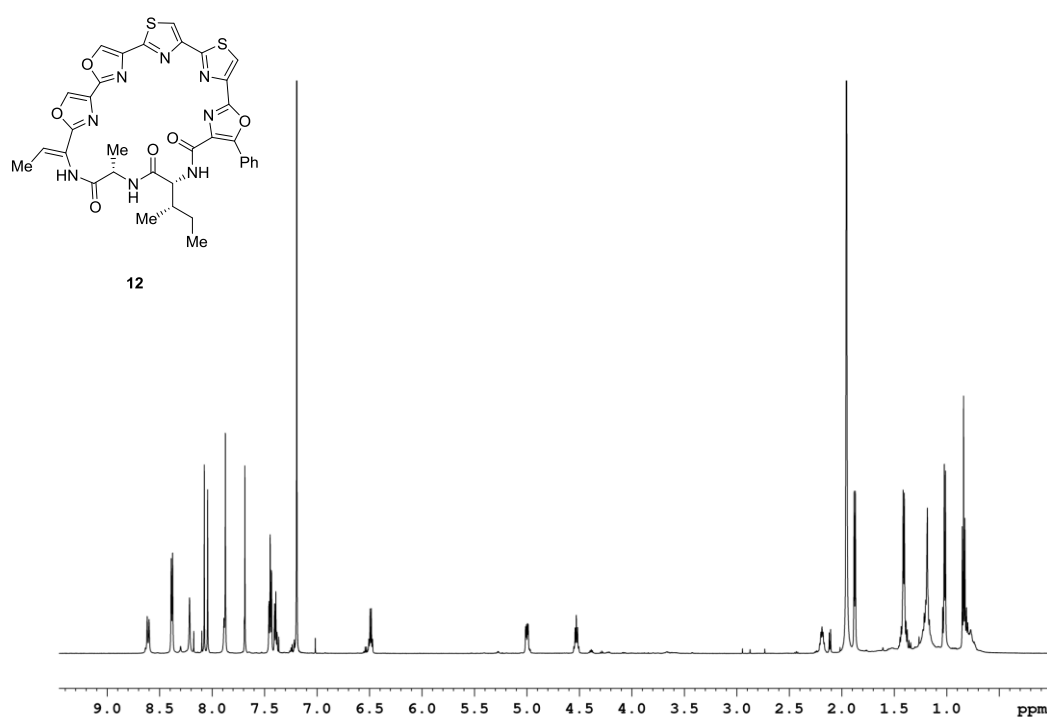


Abbildung 11.83: ¹H-NMR-Spektrum von Urukthapelstatin A (**12**) (600 MHz, CDCl₃; etwa 10% Isomer).

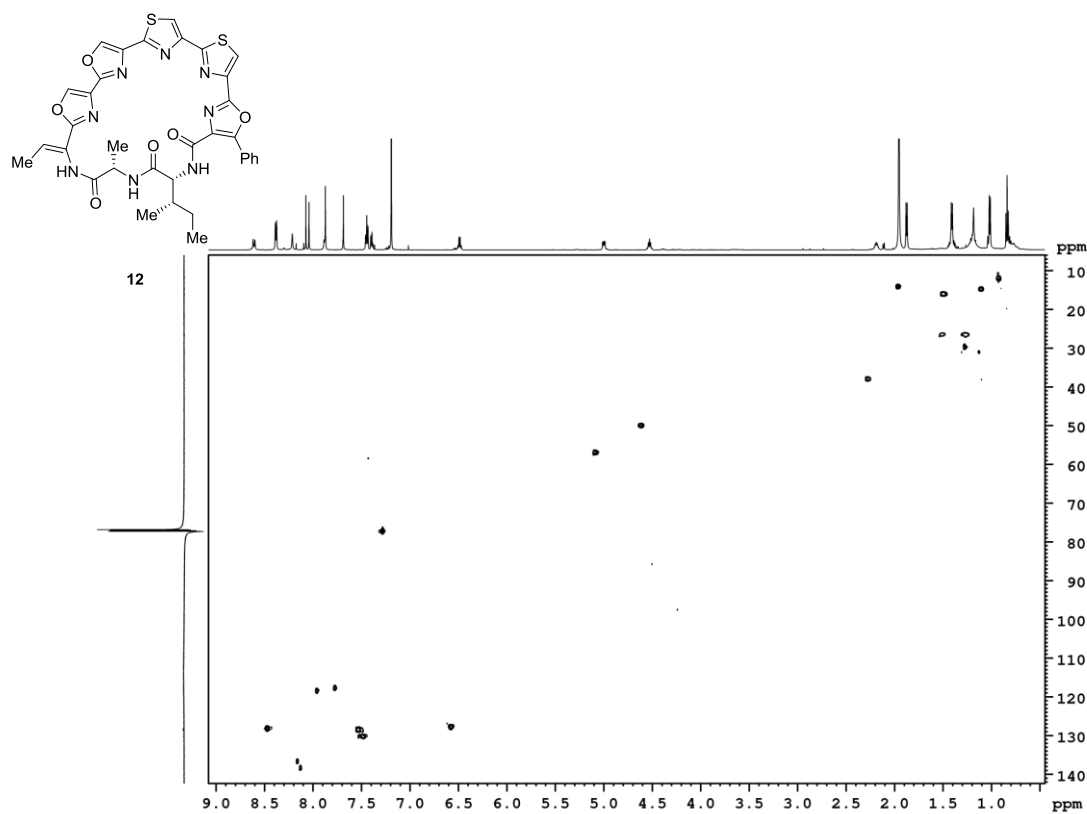


Abbildung 11.84: HSQC-NMR-Spektrum von Urukthapelstatin A (**12**) (600 MHz/150 MHz, CDCl₃).

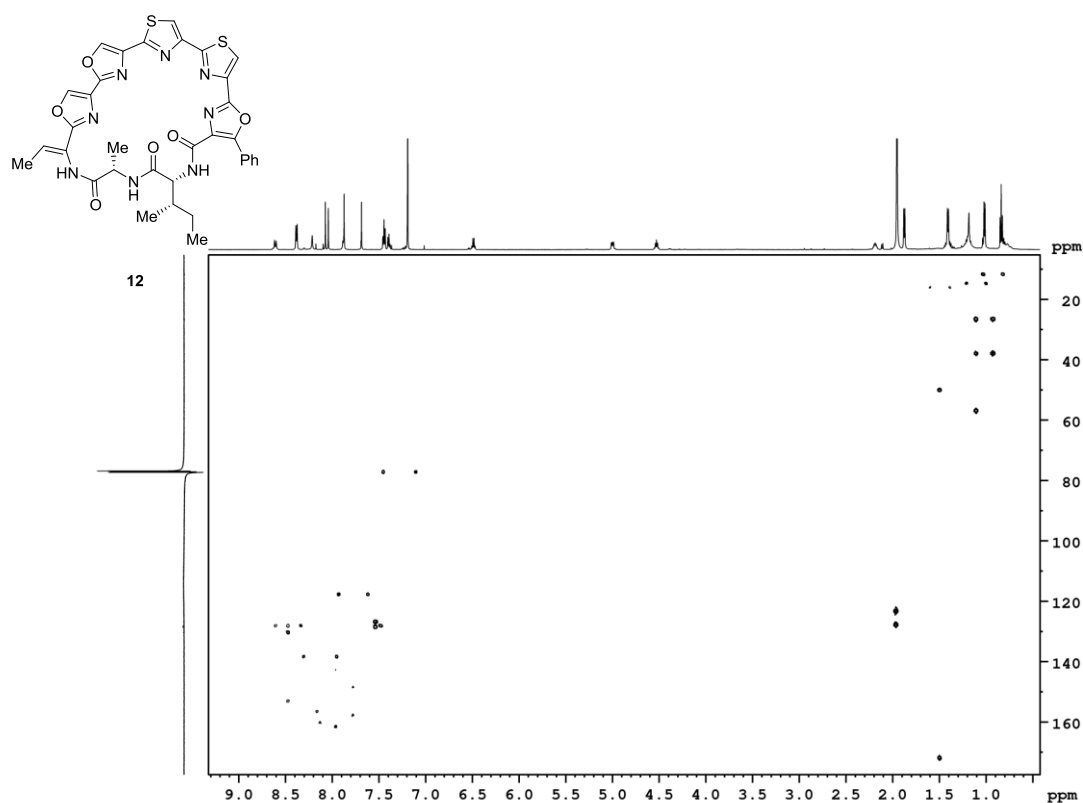


Abbildung 11.85: HMBC-NMR-Spektrum von Urukthapelstatin A (**12**) (600 MHz/150 MHz, CDCl_3).

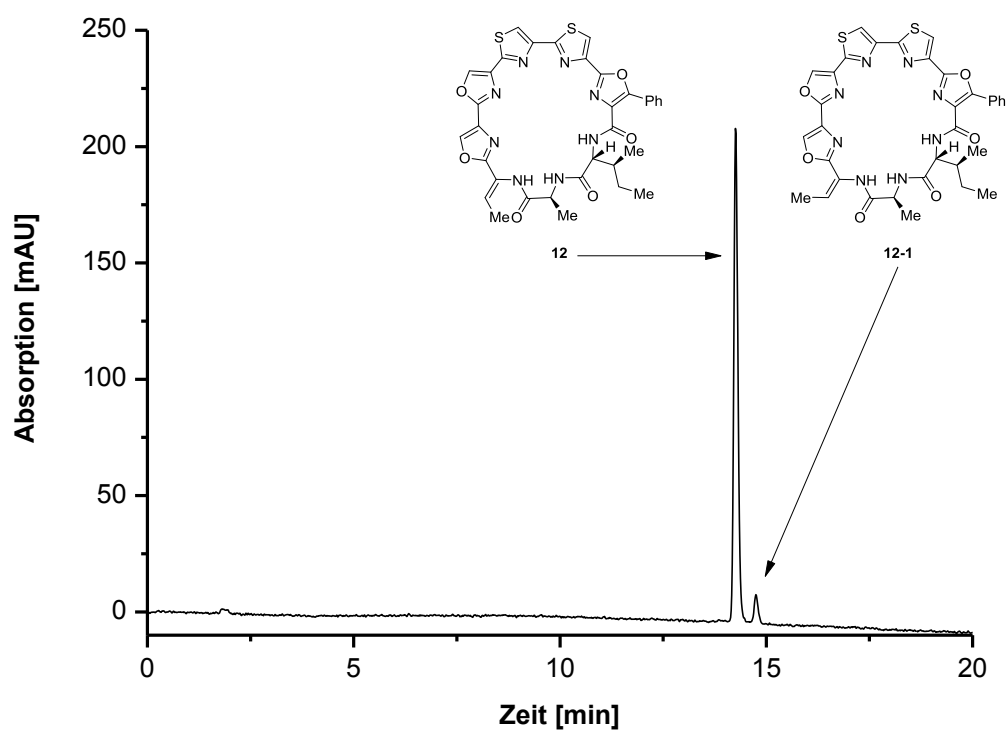


Abbildung 11.86: HPLC direkt nach Isolierung: Z-Isomer ($t_R = 14.3$ min)/E-Isomer ($t_R = 14.8$ min) = 95:5.

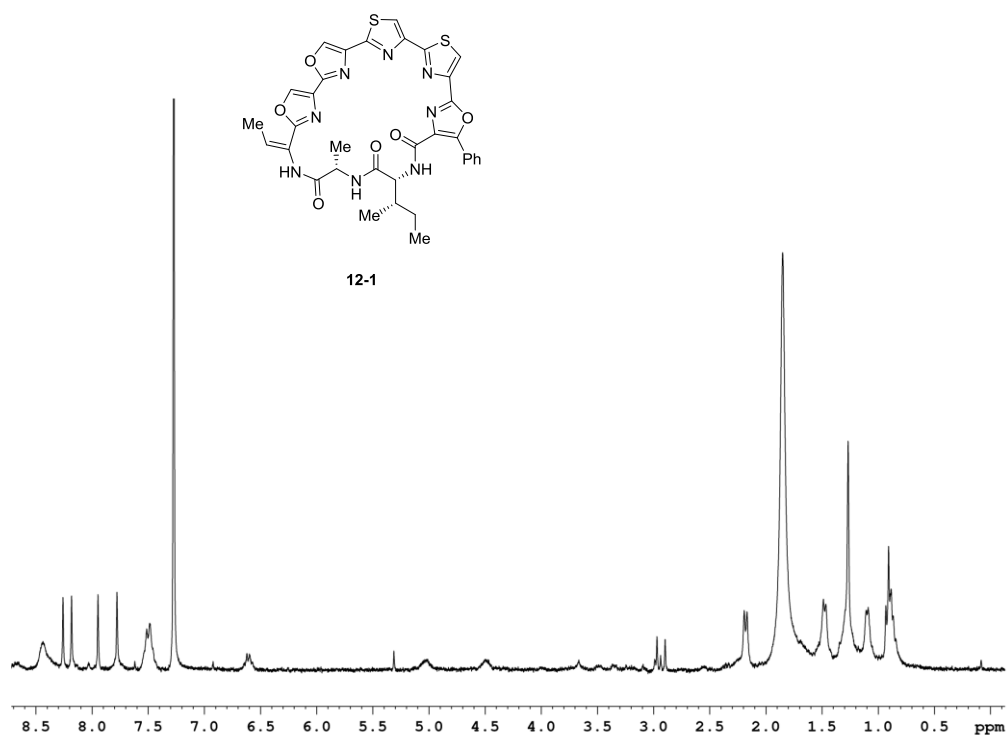


Abbildung 11.87: ¹H-NMR-Spektrum von *E*-Urukthapelstatin A (12-1) (300 MHz, CDCl₃).

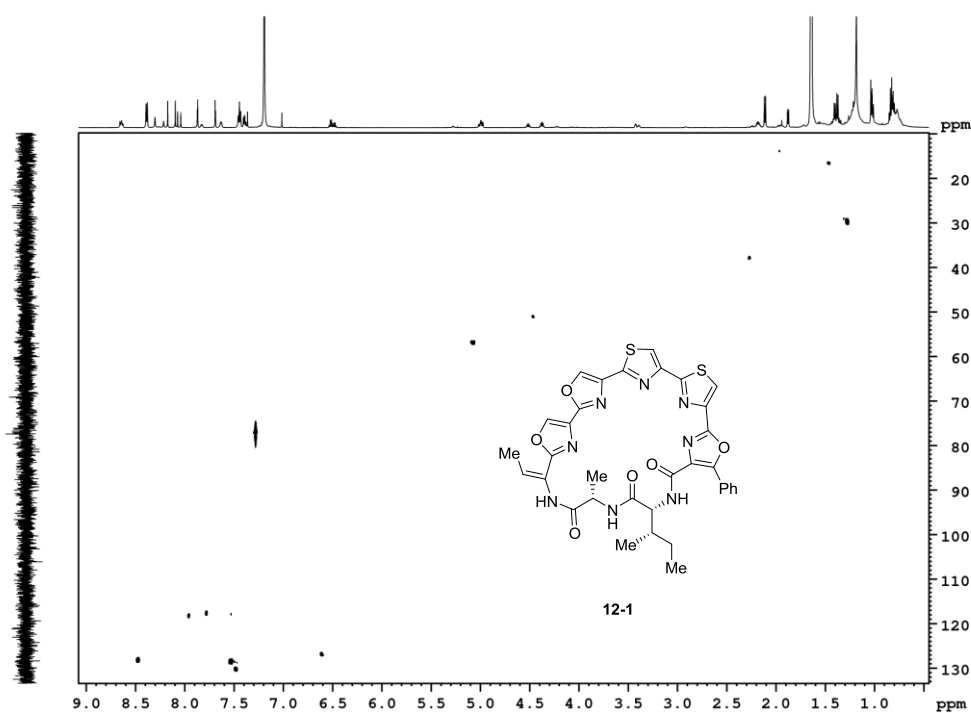


Abbildung 11.88: HSQC/DEPT135-NMR-Spektrum von *E*-Urukthapelstatin A (12-1) (600 MHz/100 MHz, CDCl₃).

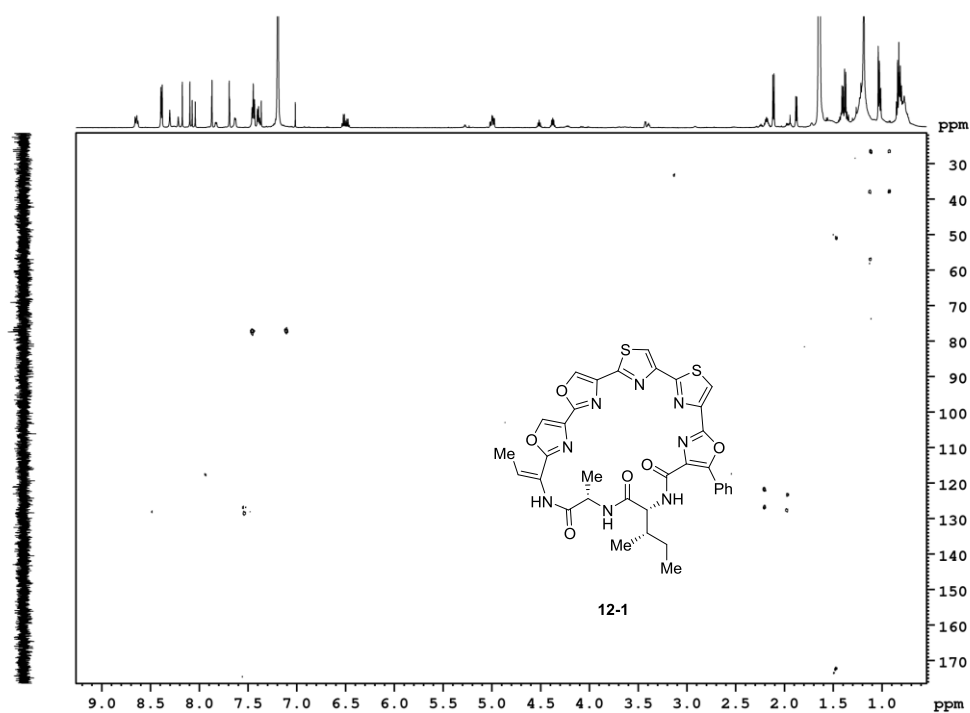


Abbildung 11.89: HMBC-NMR-Spektrum von *E*-Urukthapelstatin A (**12-1**) (600 MHz/100 MHz, CDCl₃).

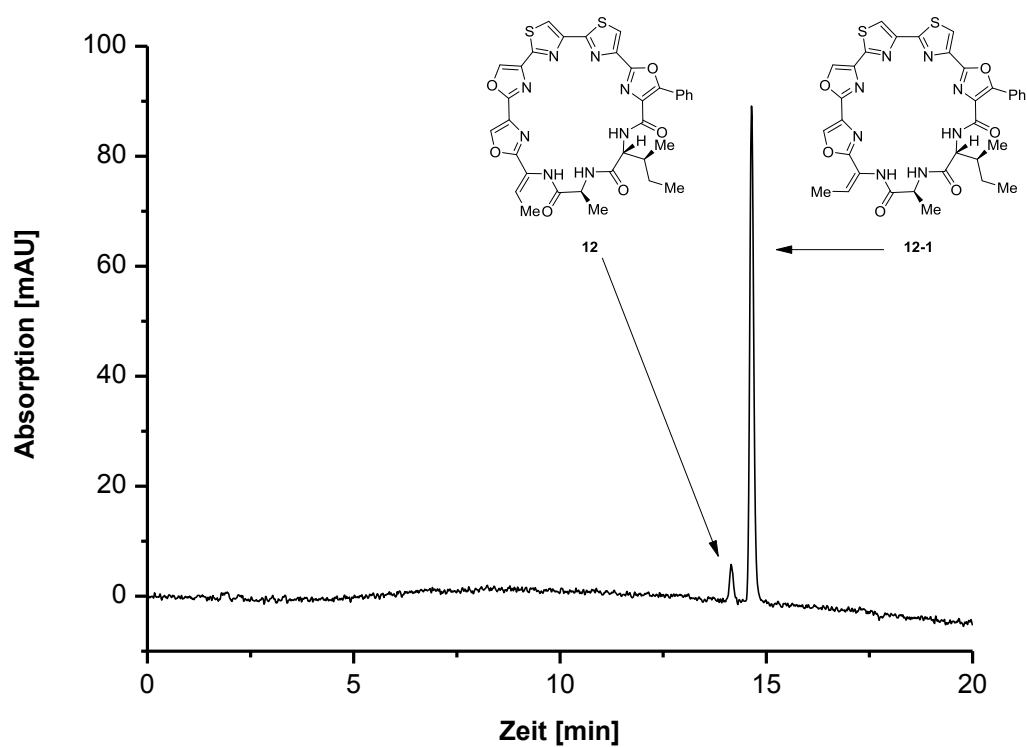


Abbildung 11.90: HPLC direkt nach Isolierung: Z-Isomer ($t_R = 14.2$ min)/*E*-Isomer ($t_R = 14.6$ min) = 7:93.

11.2 Sirtuin Modulatoren

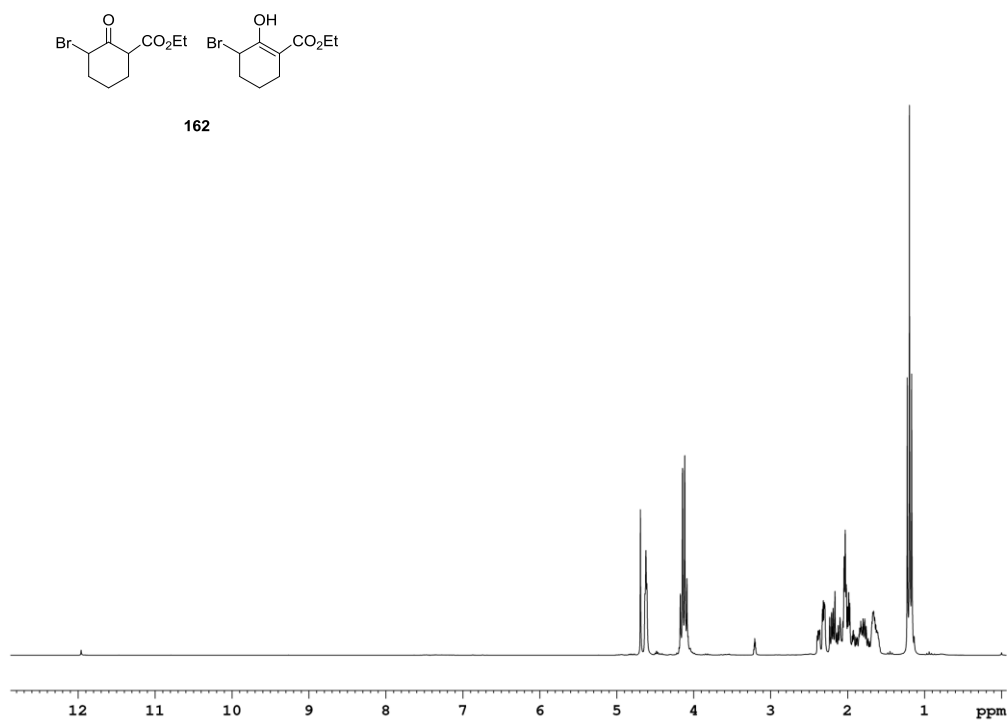


Abbildung 11.91: ^1H -NMR-Spektrum des Ethylesters **162** (250 MHz, MeOD-d_4).

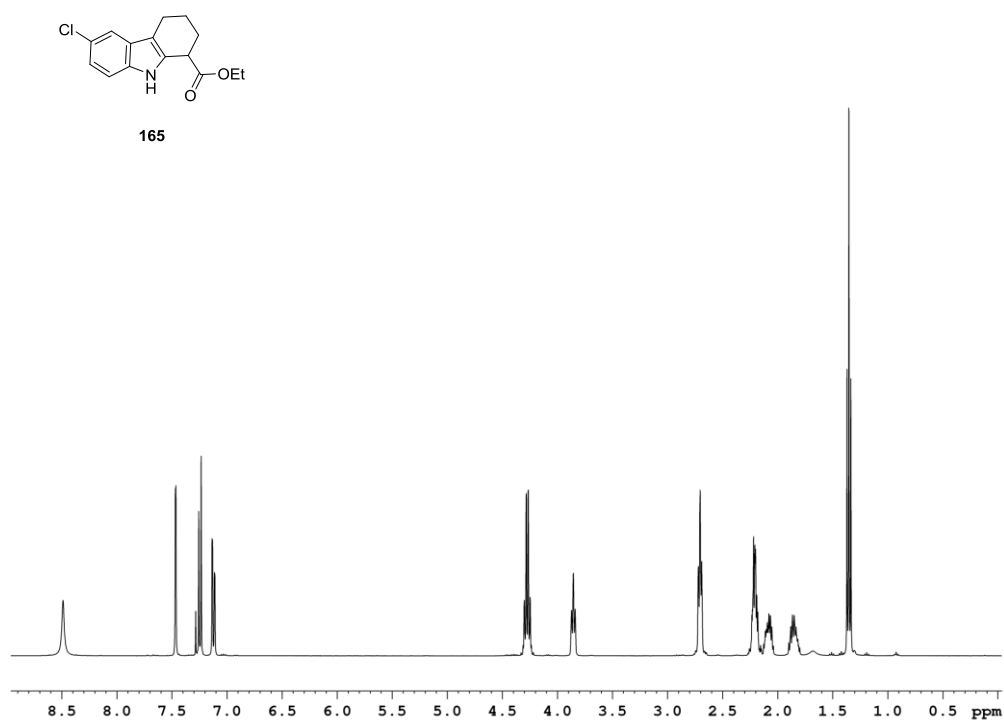


Abbildung 11.92: ^1H -NMR-Spektrum des 6-Cl-Tetrahydrocarbazols **165** (400 MHz, CDCl_3).

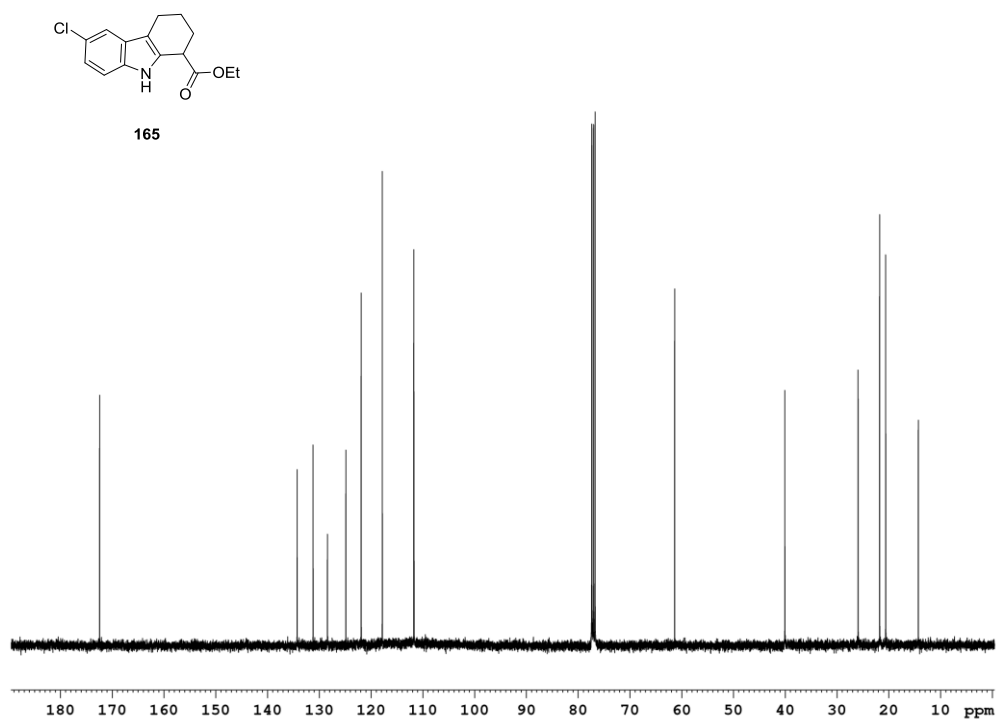


Abbildung 11.93: ^{13}C -NMR-Spektrum des 6-Cl-Tetrahydrocarbazols **165** (101 MHz, CDCl_3).

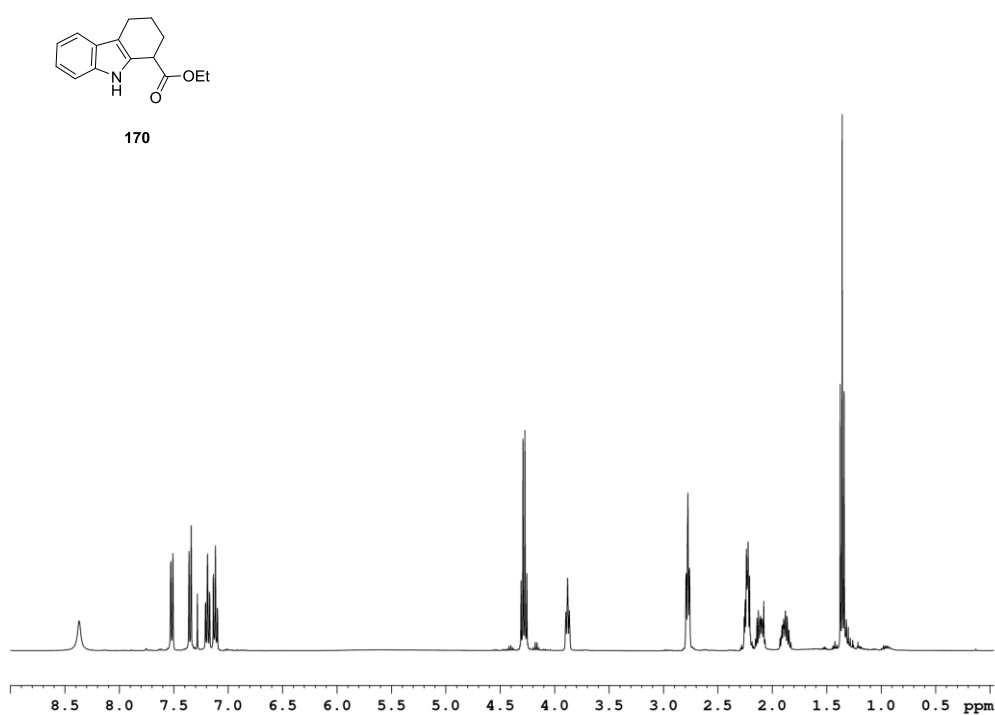


Abbildung 11.94: ^1H -NMR-Spektrum des Tetrahydrocarbazols **170** (400 MHz, CDCl_3).

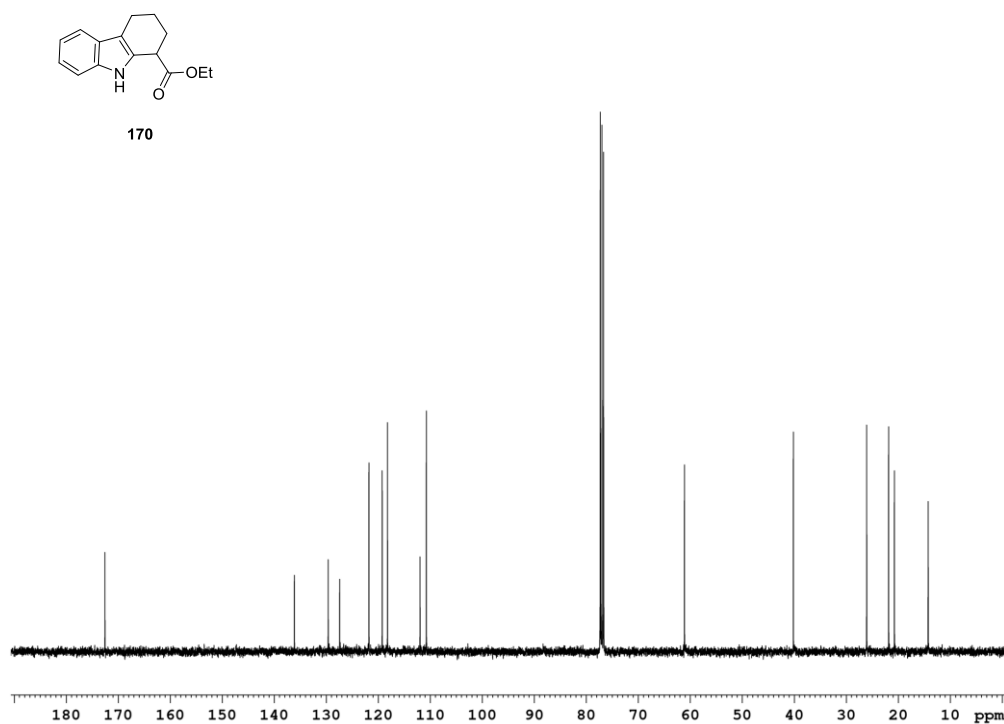


Abbildung 11.95: ^{13}C -NMR-Spektrum des Tetrahydrocarbazols **170** (101 MHz, CDCl_3).

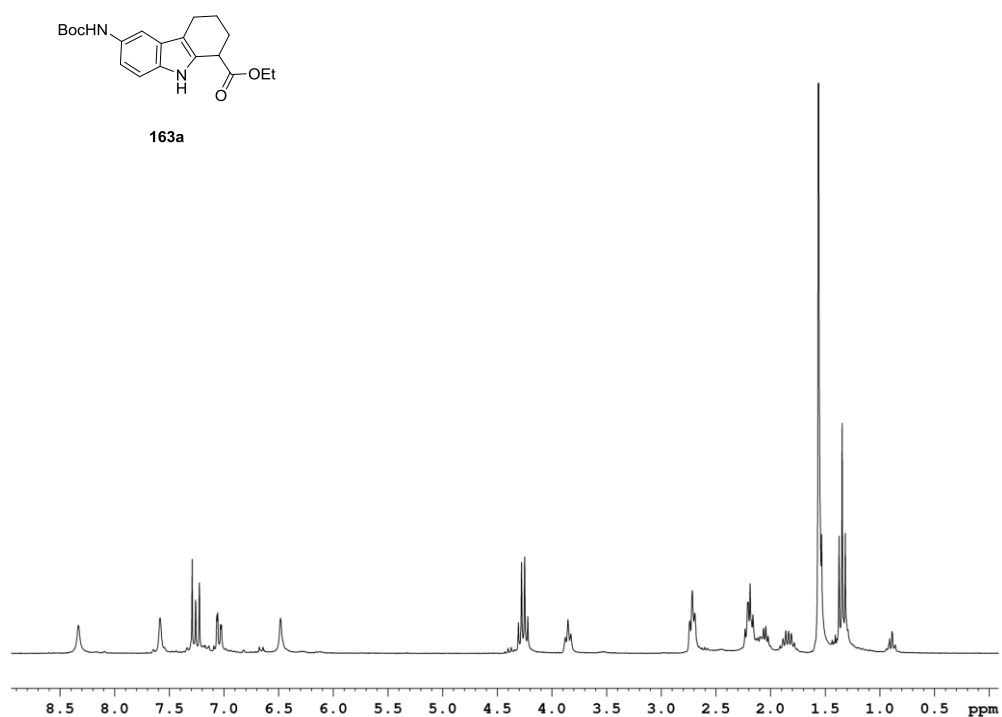


Abbildung 11.96: ¹H-NMR-Spektrum des 6-BocHN-Tetrahydrocarbazols **163a** (250 MHz, CDCl₃).

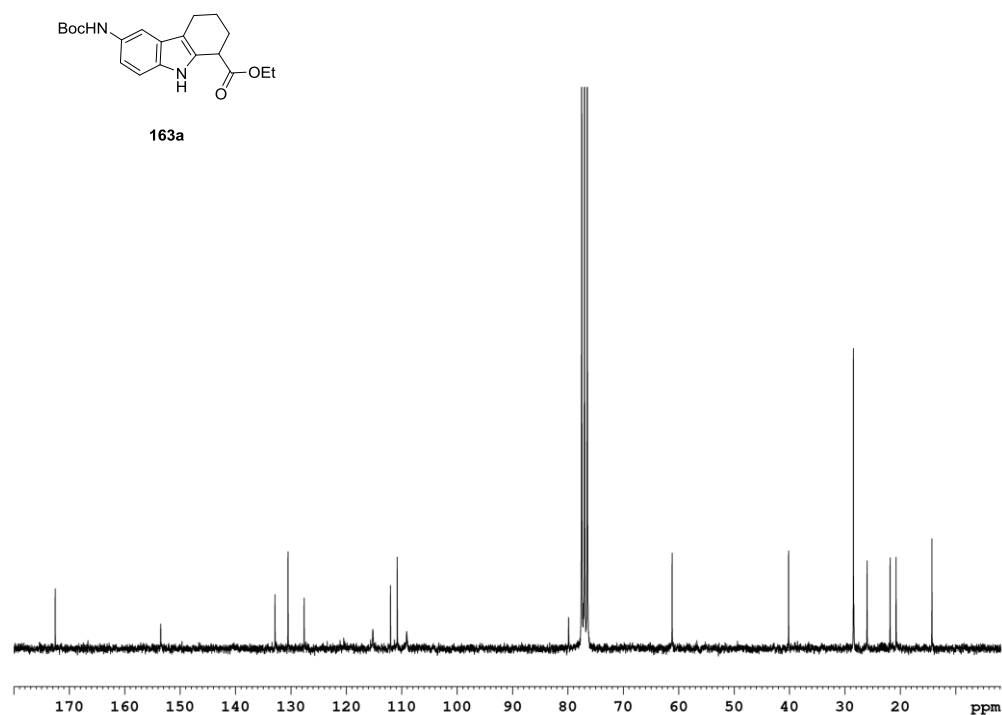


Abbildung 11.97: ¹³C-NMR-Spektrum des 6-BocHN-Tetrahydrocarbazols **163a** (63 MHz, CDCl₃).

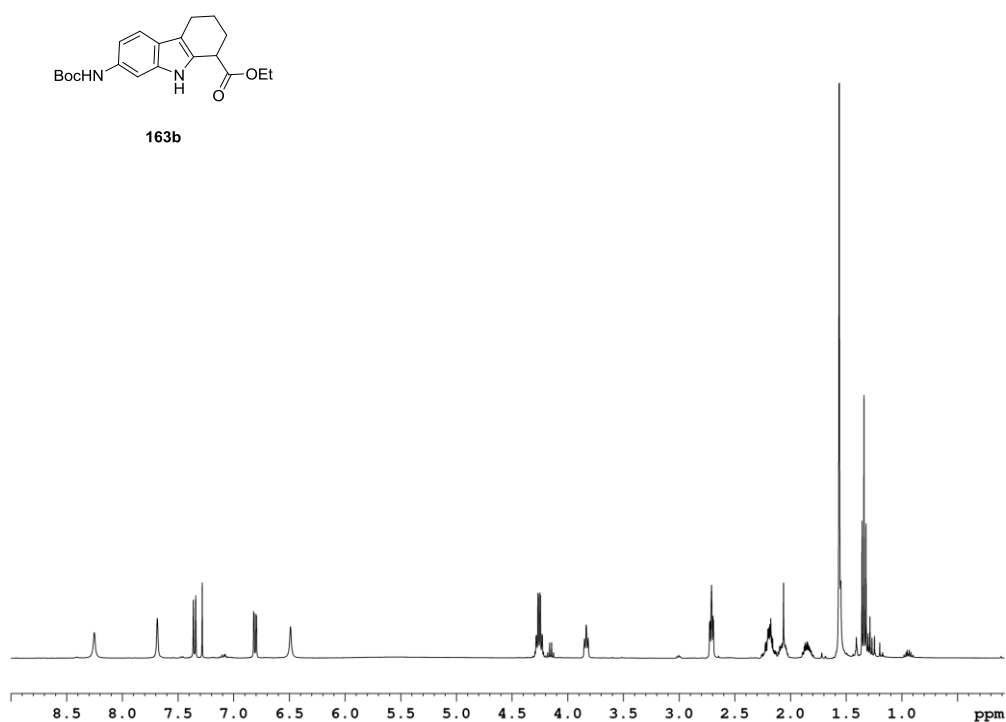


Abbildung 11.98: ^1H -NMR-Spektrum des 7-BocHN-Tetrahydrocarbazols **163b** (400 MHz, CDCl_3).

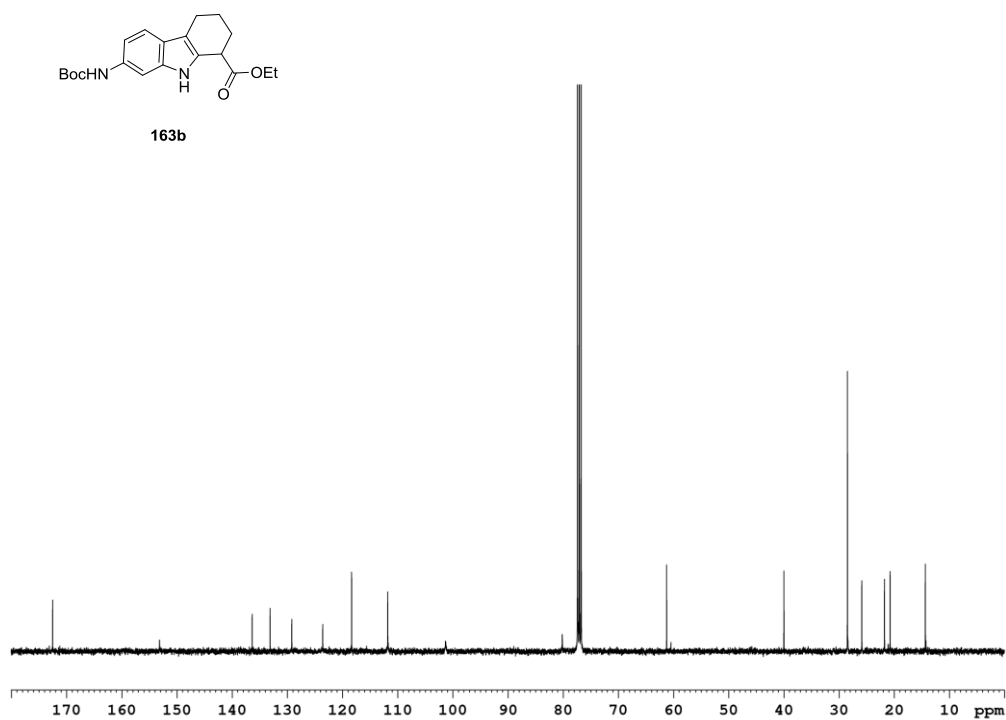


Abbildung 11.99: ^{13}C -NMR-Spektrum des 7-BocHN-Tetrahydrocarbazols **163b** (101 MHz, CDCl_3).

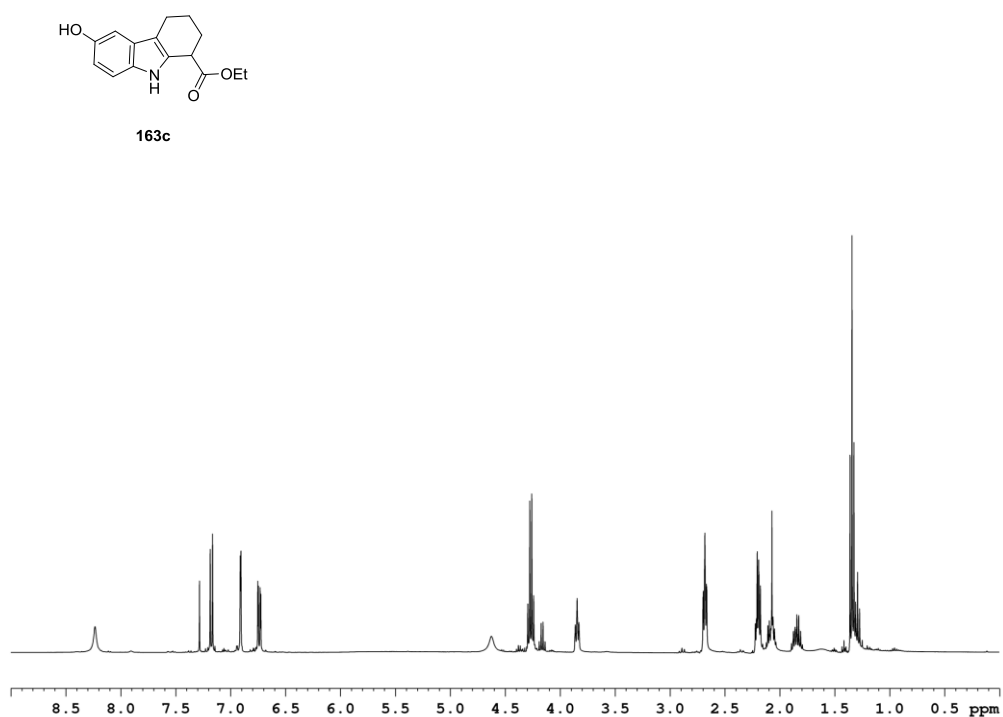


Abbildung 11.100: ^1H -NMR-Spektrum des 6-HO-Tetrahydrocarbazols **163c** (400 MHz, CDCl_3).

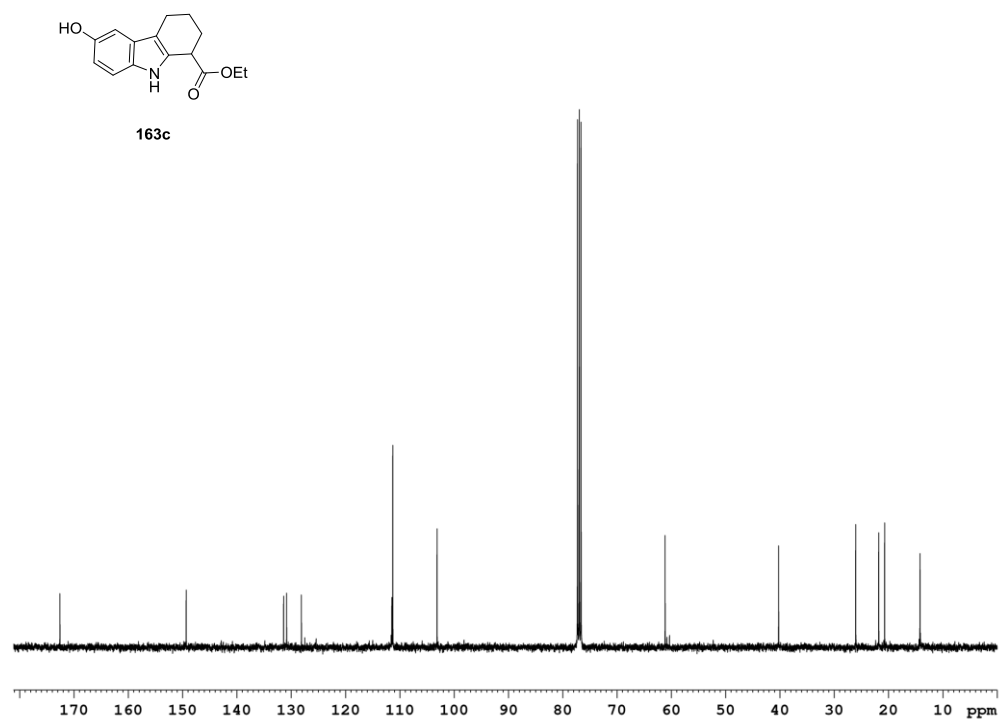


Abbildung 11.101: ^{13}C -NMR-Spektrum des 6-HO-Tetrahydrocarbazols **163c** (101 MHz, CDCl_3).

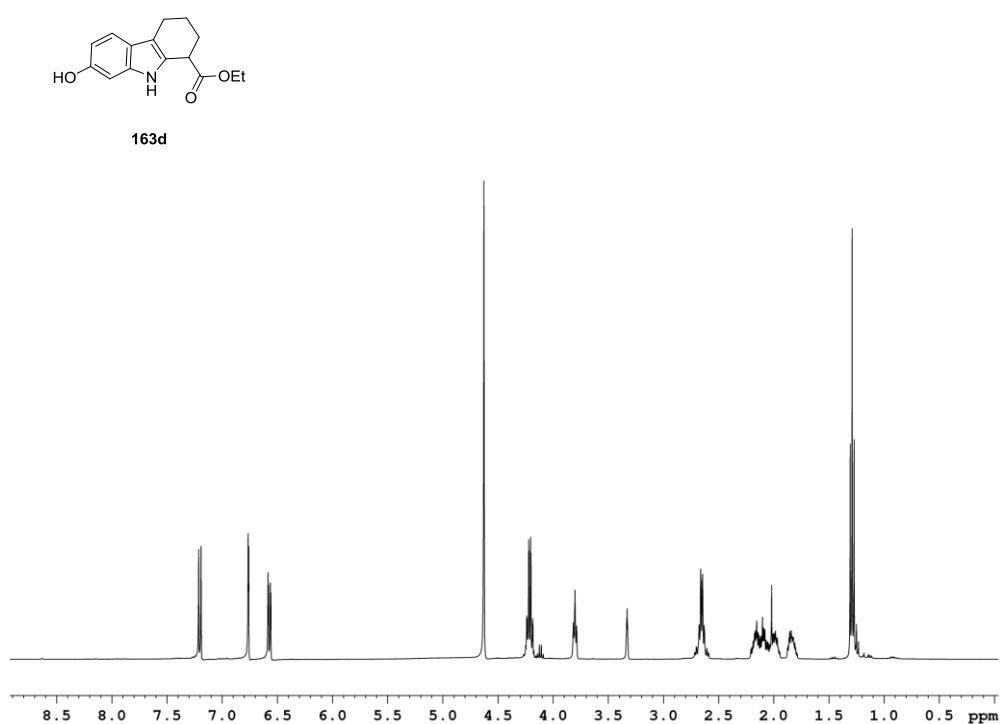


Abbildung 11.102: ^1H -NMR-Spektrum des 7-HO-Tetrahydrocarbazols **163d** (400 MHz, MeOD- d_4).

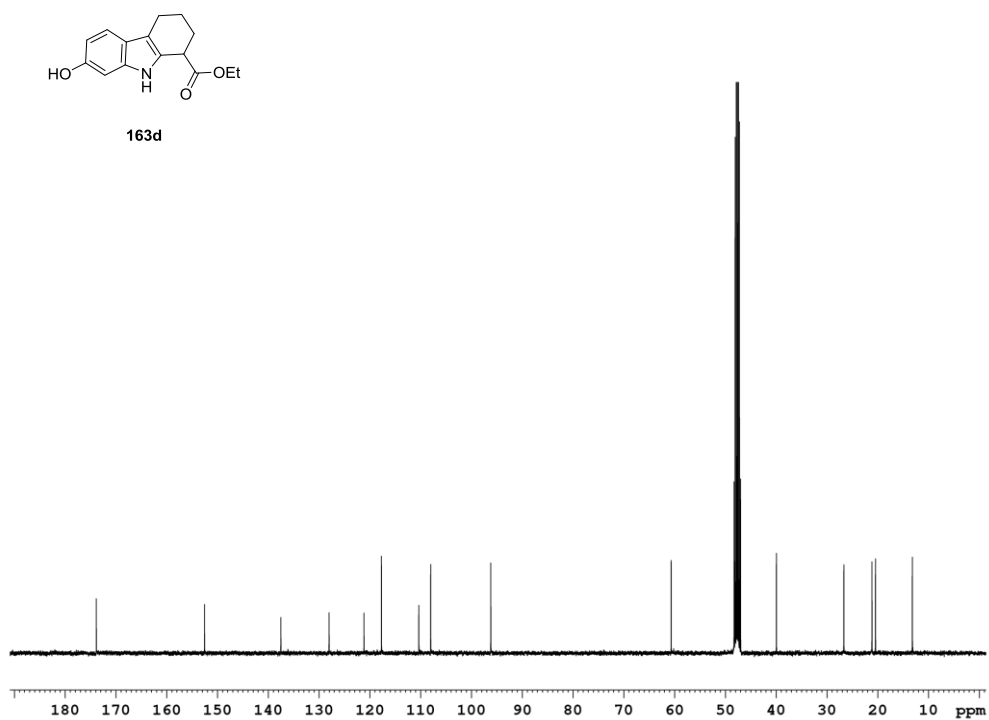


Abbildung 11.103: ^{13}C -NMR-Spektrum des 7-HO-Tetrahydrocarbazols **163d** (101 MHz, MeOD- d_4).

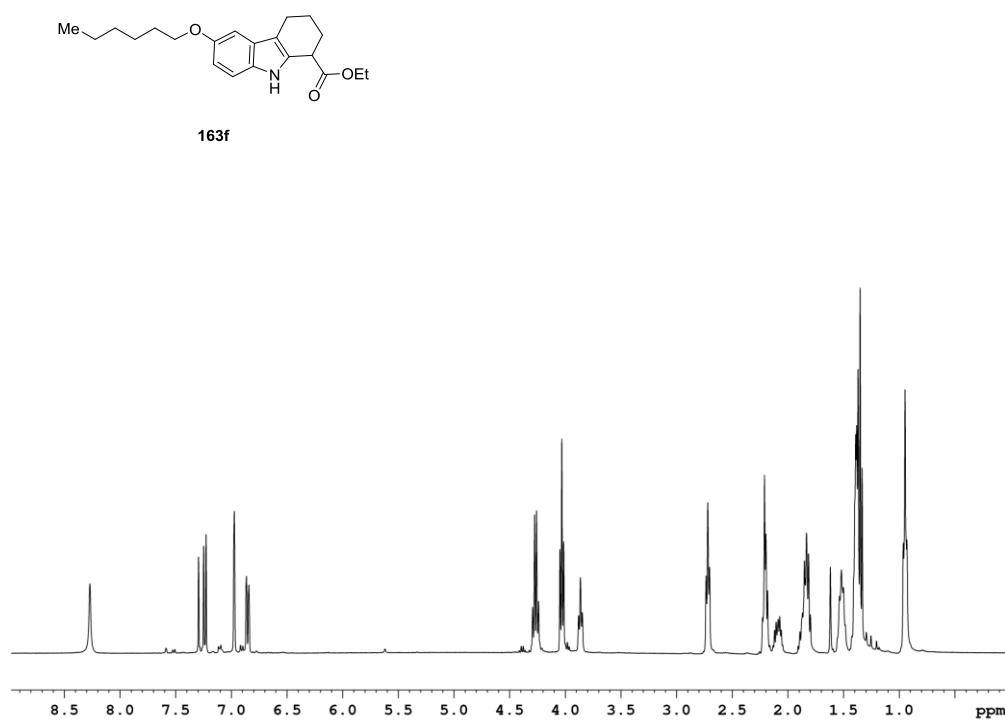


Abbildung 11.104: ^1H -NMR-Spektrum des Hexylethers **163f** (400 MHz, CDCl_3).

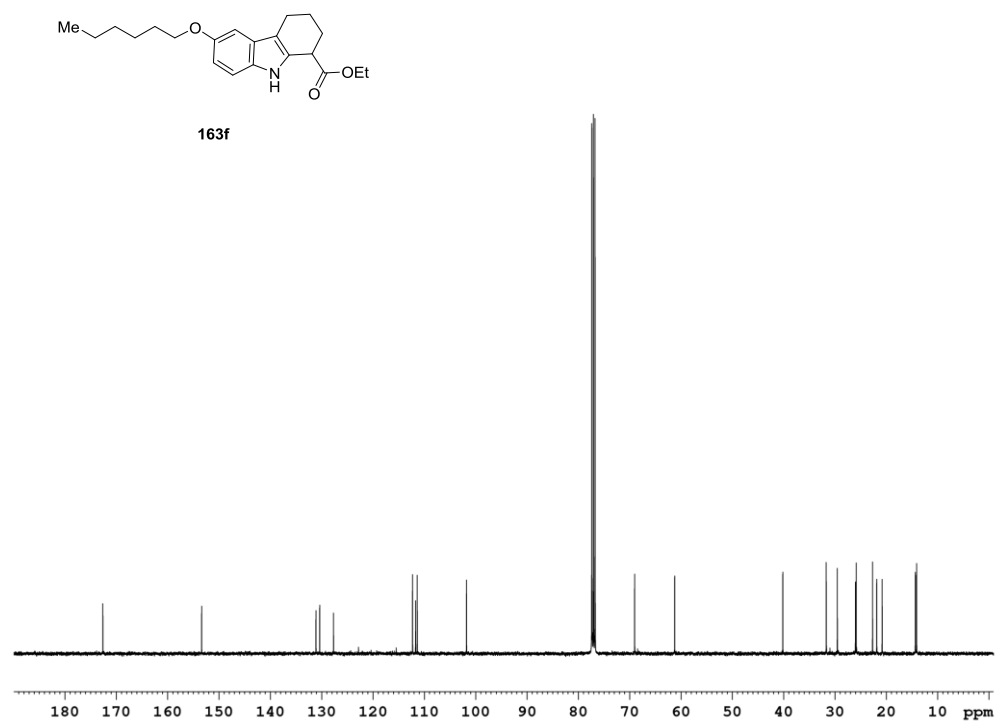


Abbildung 11.105: ^{13}C -NMR-Spektrum des Hexylether **163f** (101 MHz, CDCl_3).

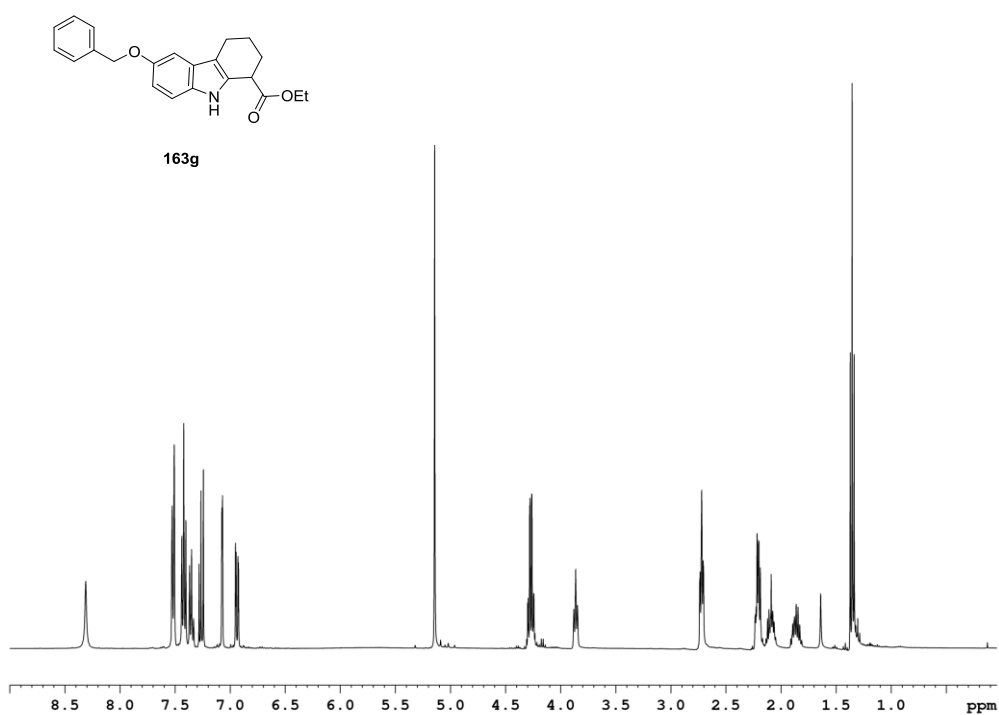


Abbildung 11.106: ^1H -NMR-Spektrum des Benzylethers **163g** (400 MHz, CDCl_3).

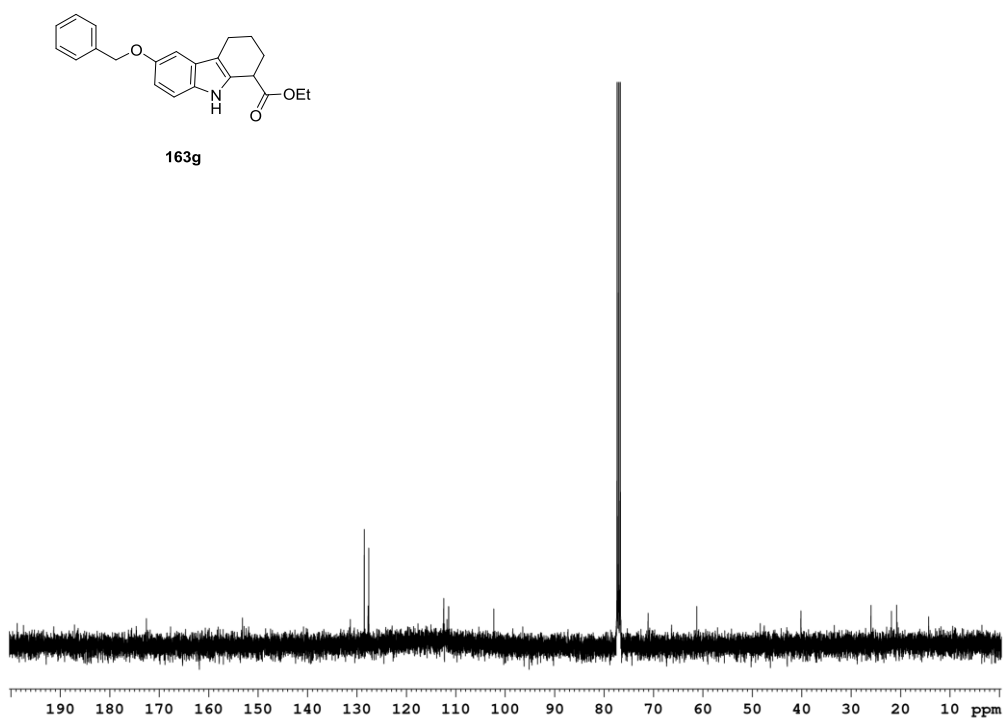


Abbildung 11.107: ^{13}C -NMR-Spektrum des Benzylethers **163g** (101 MHz, CDCl_3).

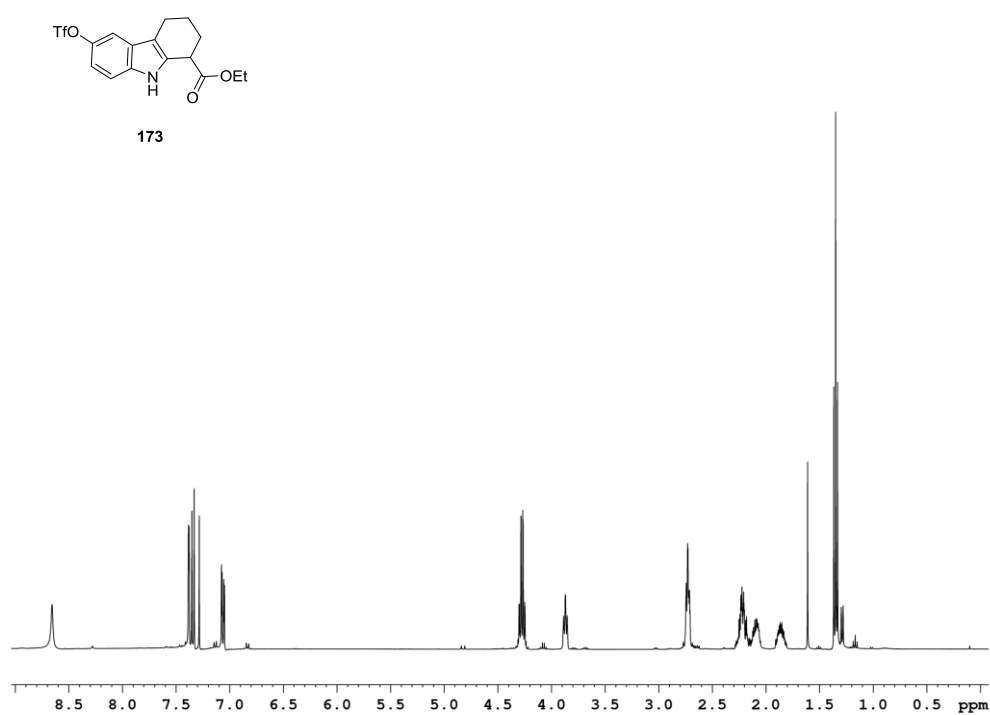


Abbildung 11.108: ¹H-NMR-Spektrum des Trifluormethansulfonsäureesters **173** (400 MHz, CDCl₃).

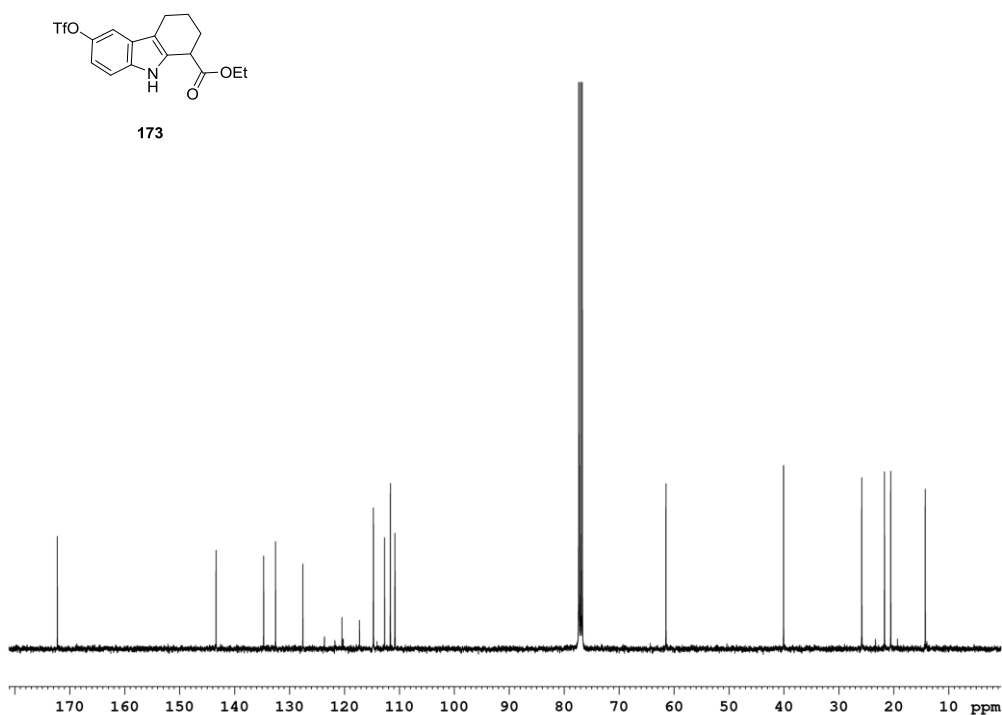


Abbildung 11.109: ¹³C-NMR-Spektrum des Trifluormethansulfonsäureesters **173** (101 MHz, CDCl₃).

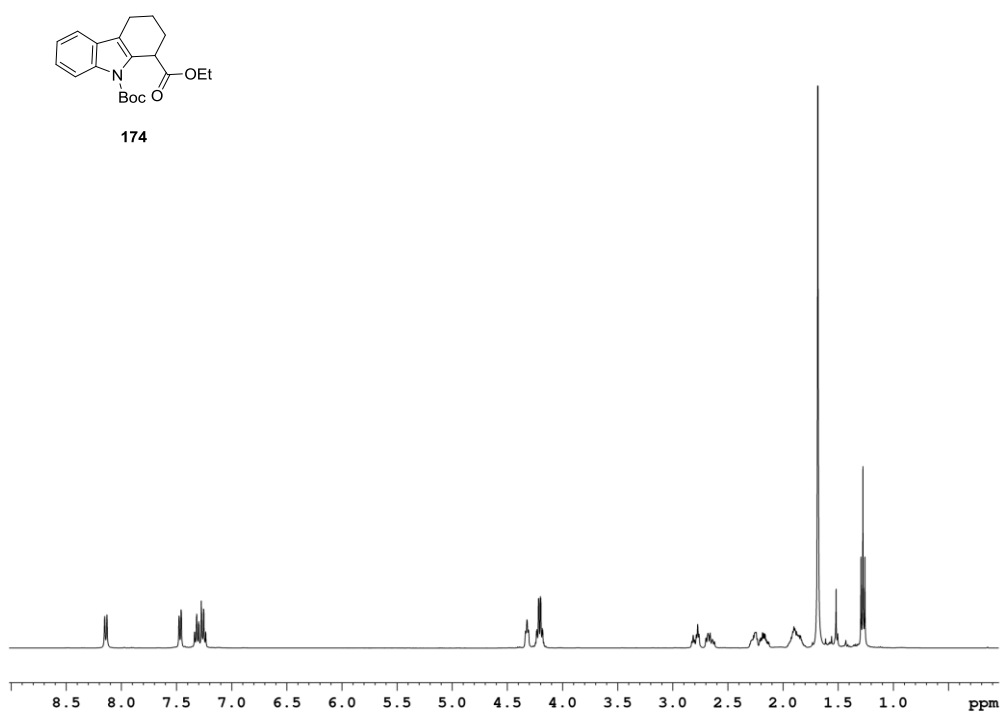


Abbildung 11.110: ^1H -NMR-Spektrum des Carbamats **174** (400 MHz, CDCl_3).

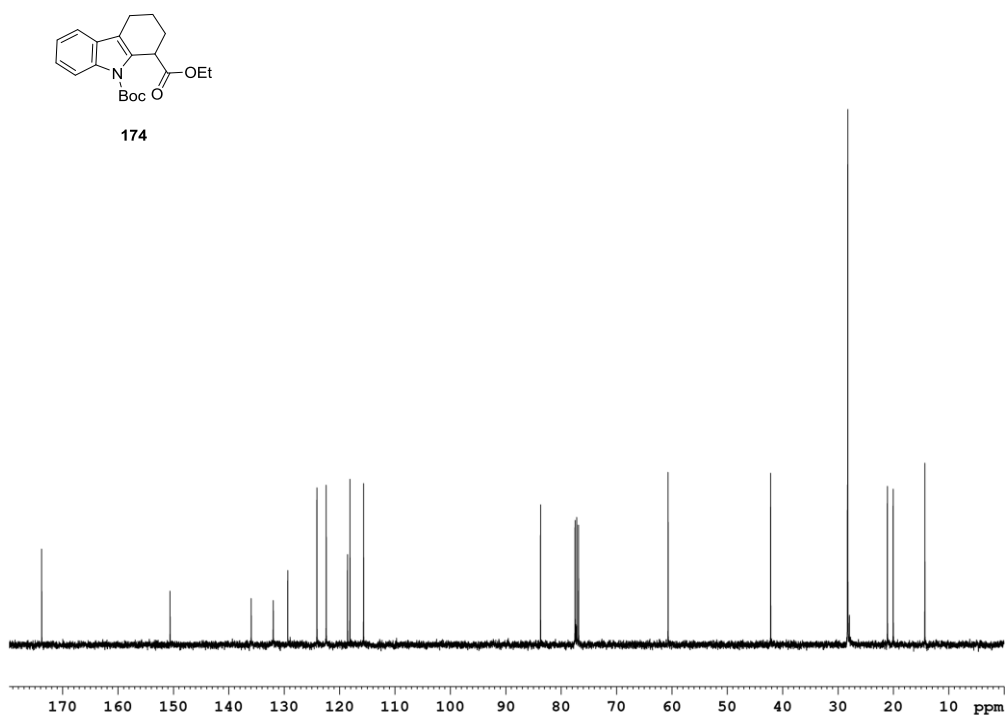


Abbildung 11.111: ^{13}C -NMR-Spektrum des Carbamats **174** (101 MHz, CDCl_3).

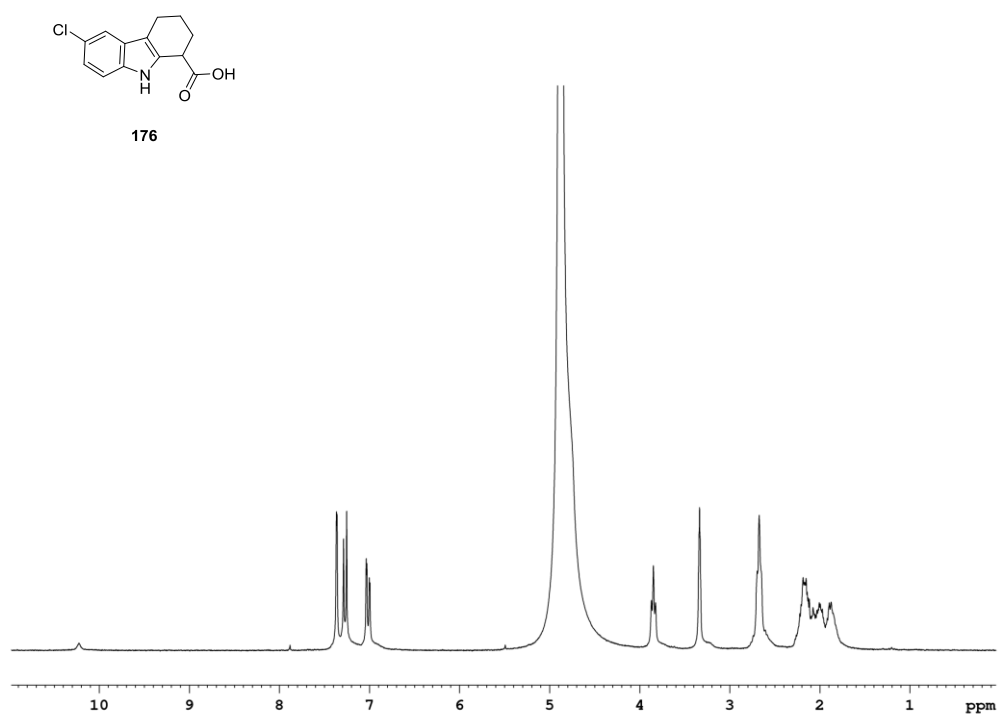


Abbildung 11.112: ¹H-NMR-Spektrum der Carbonsäure **176** (250 MHz, MeOD-d₄).

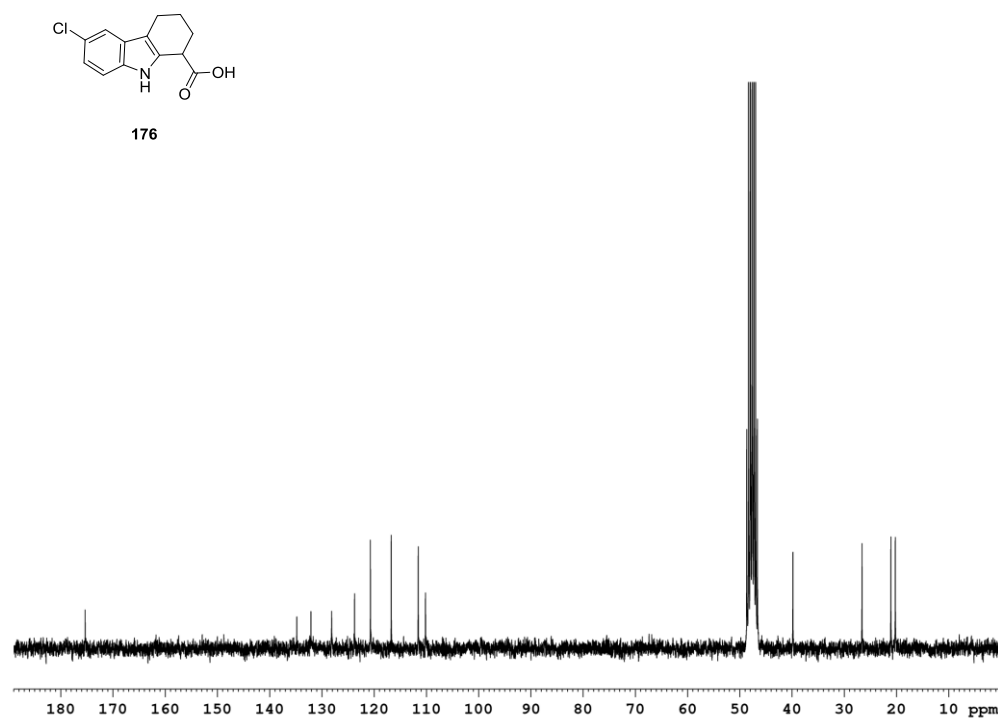


Abbildung 11.113: ¹³C-NMR-Spektrum der Carbonsäure **176** (63 MHz, MeOD-d₄).

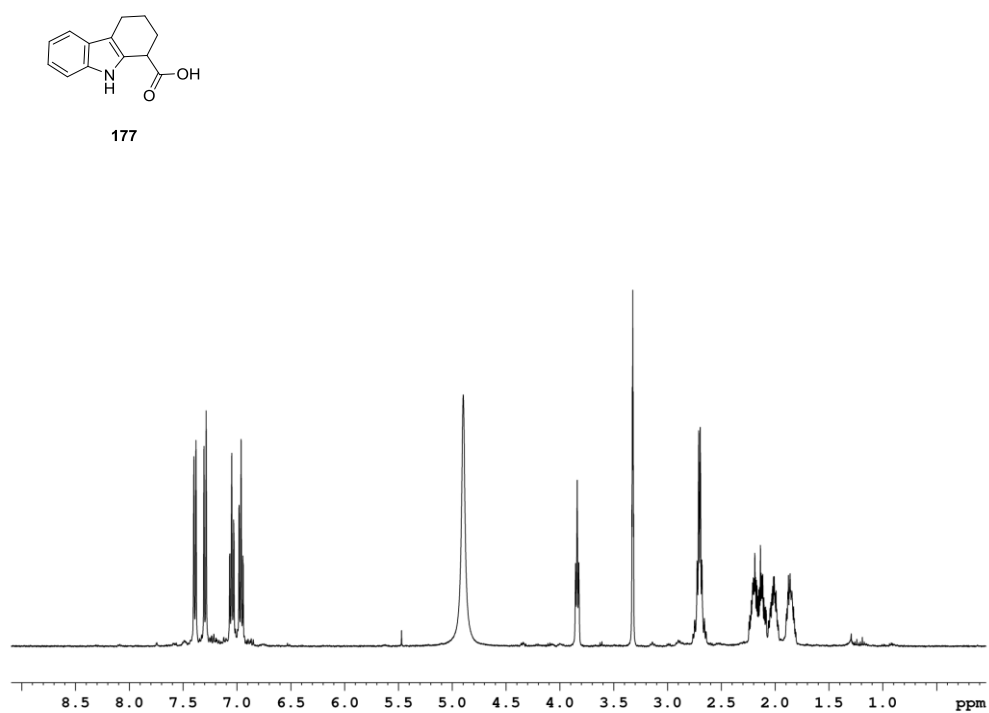


Abbildung 11.114: ^1H -NMR-Spektrum der Carbonsäure **177** (400 MHz, MeOD- d_4).

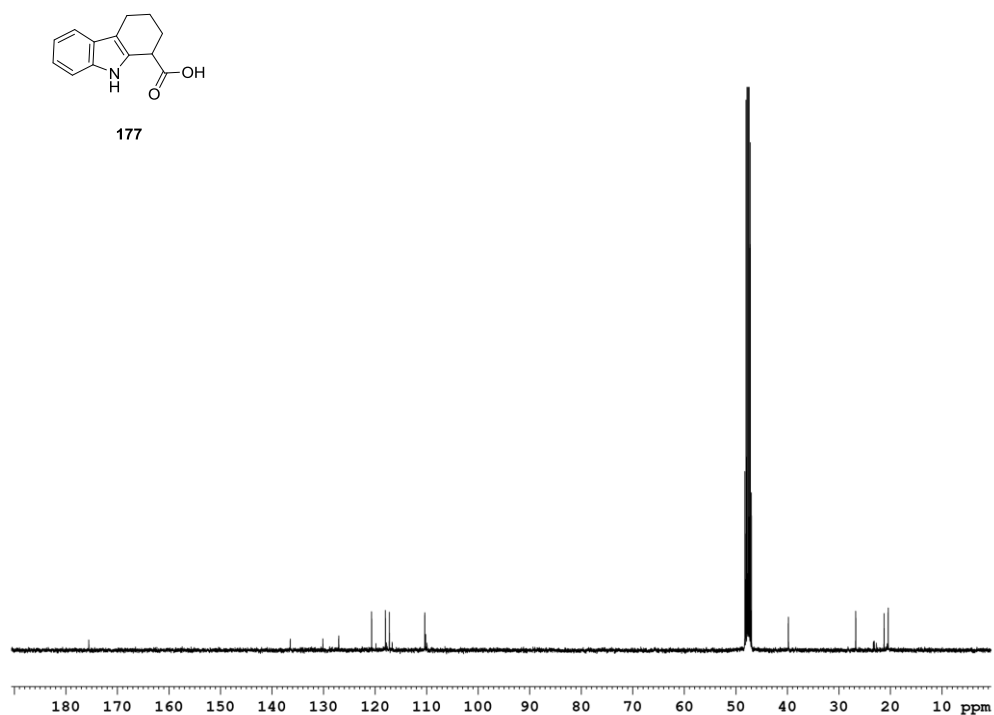


Abbildung 11.115: ^{13}C -NMR-Spektrum der Carbonsäure **177** (101 MHz, MeOD- d_4).

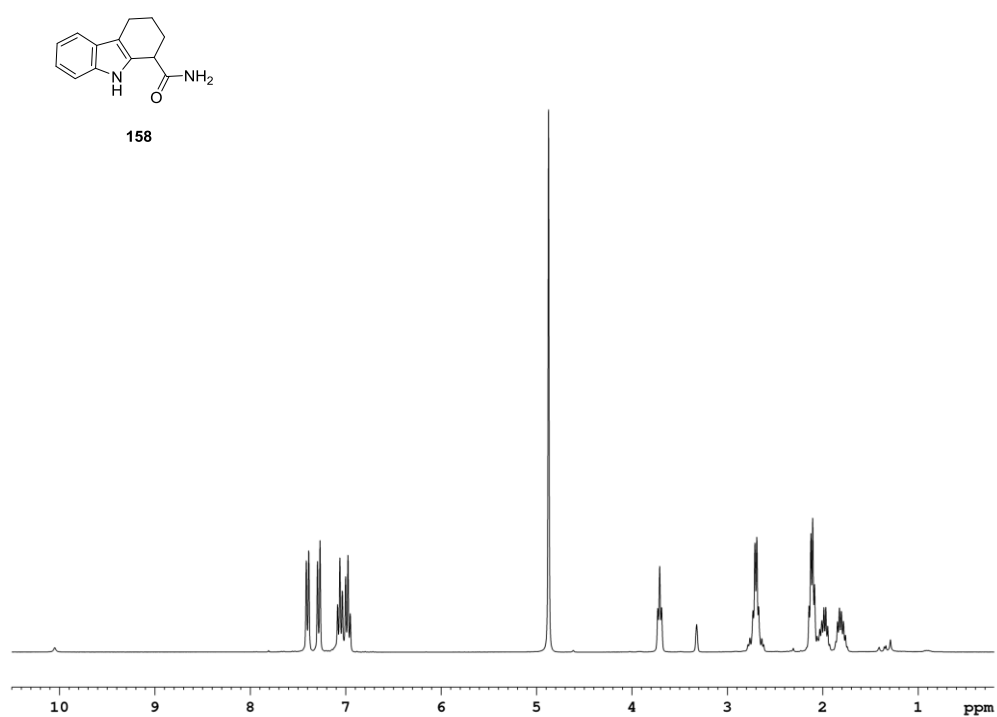


Abbildung 11.116: ¹H-NMR-Spektrum des Carboxamids **158** (300 MHz, MeOD-d₄).

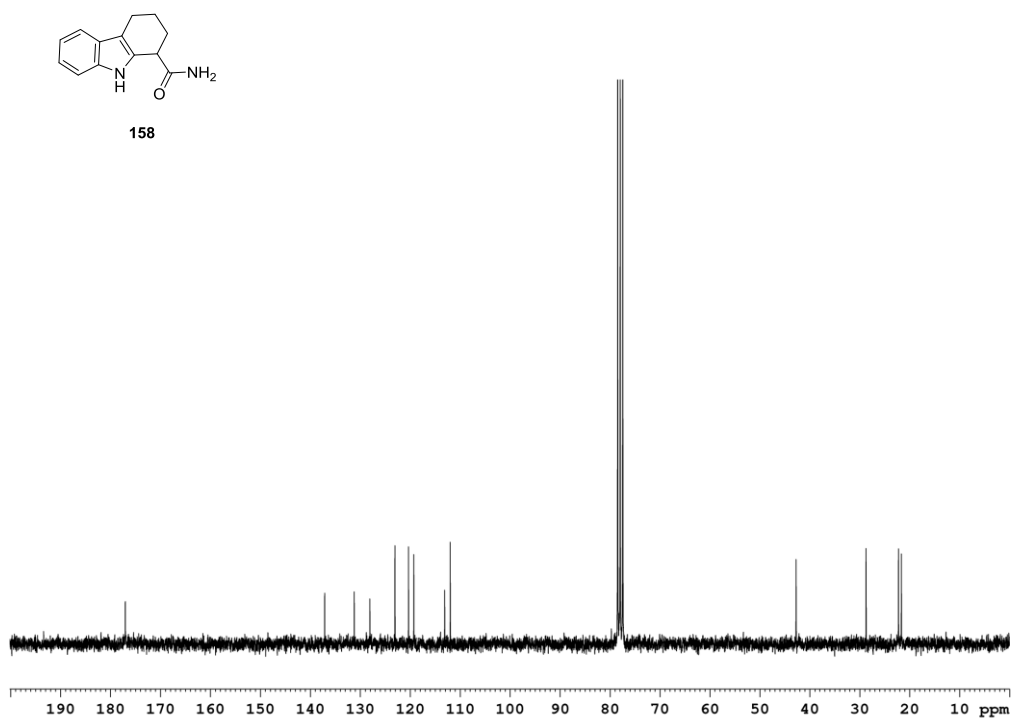


Abbildung 11.117: ¹³C-NMR-Spektrum des Carboxamids **158** (63 MHz, CDCl₃).

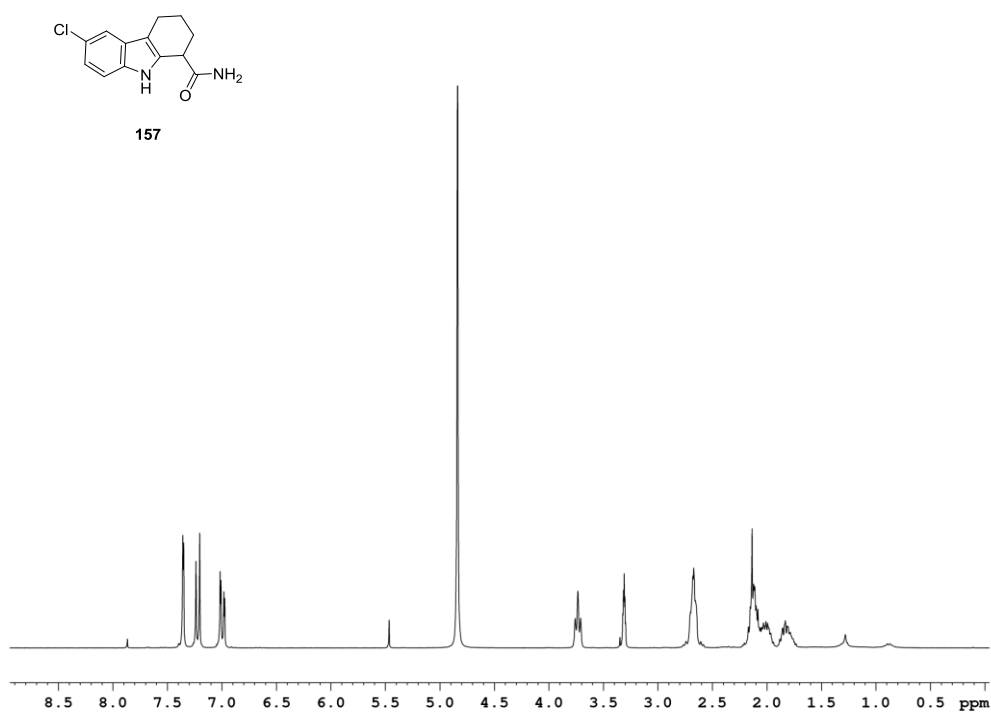


Abbildung 11.118: ^1H -NMR-Spektrum von EX-527 (**157**) (250 MHz, MeOD-d_4).

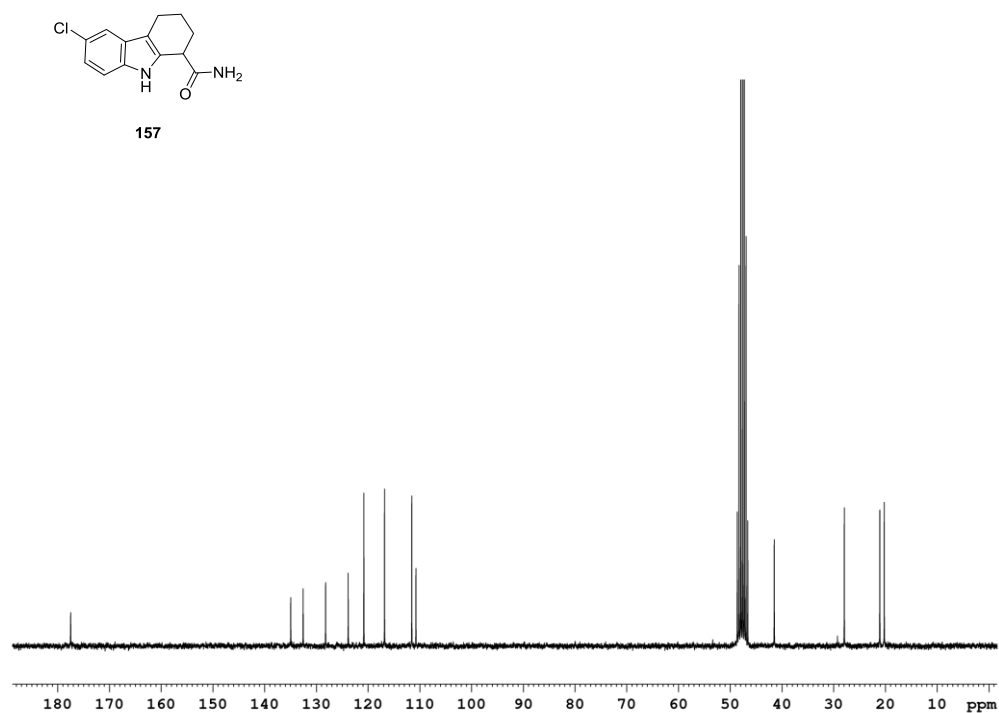


Abbildung 11.119: ^{13}C -NMR-Spektrum von EX-527 (**157**) (63 MHz, MeOD-d_4).

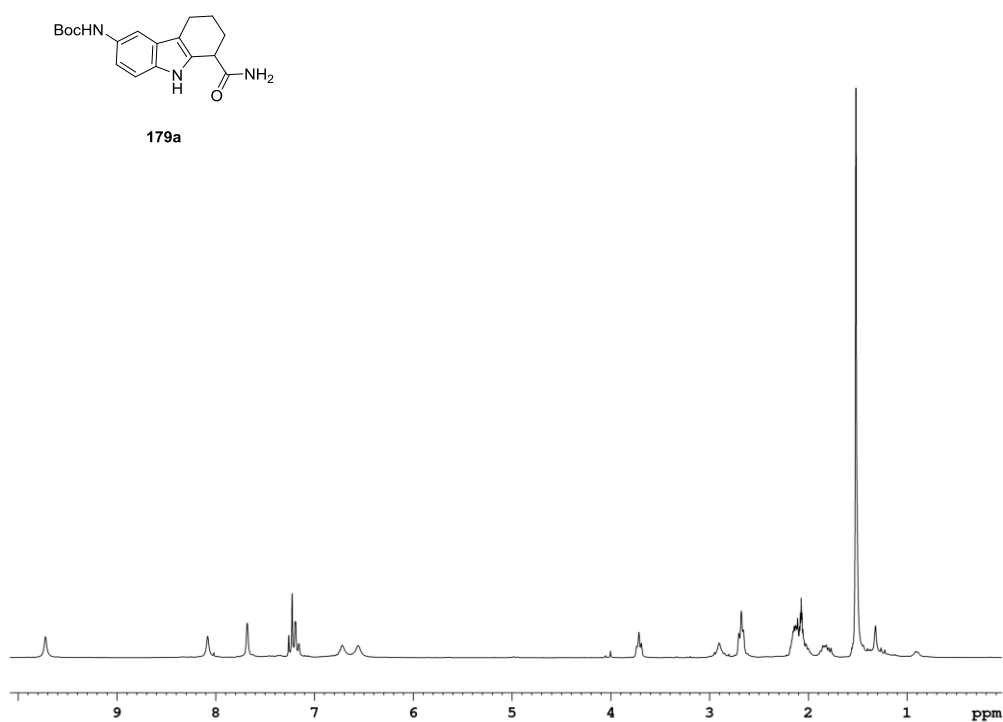


Abbildung 11.120: ^1H -NMR-Spektrum des Carboxamids **179a** (250 MHz, Aceton- d_6).

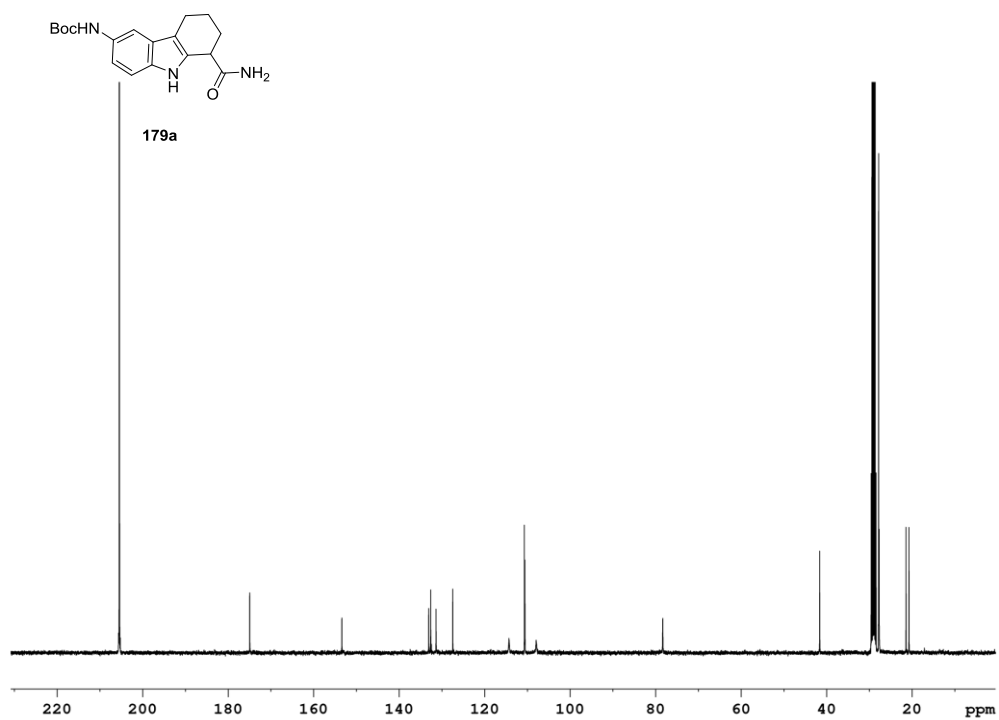


Abbildung 11.121: ^{13}C -NMR-Spektrum des Carboxamids **179a** (101 MHz, Aceton- d_6).

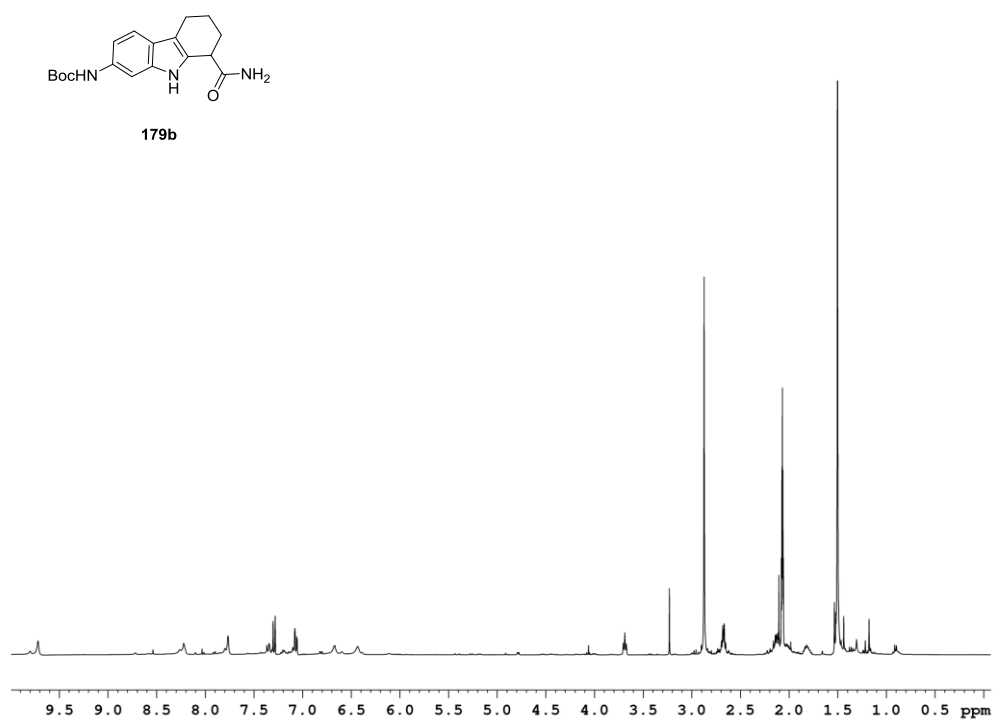


Abbildung 11.122: ^1H -NMR-Spektrum des Carboxamids **179b** (400 MHz, Aceton- d_6).

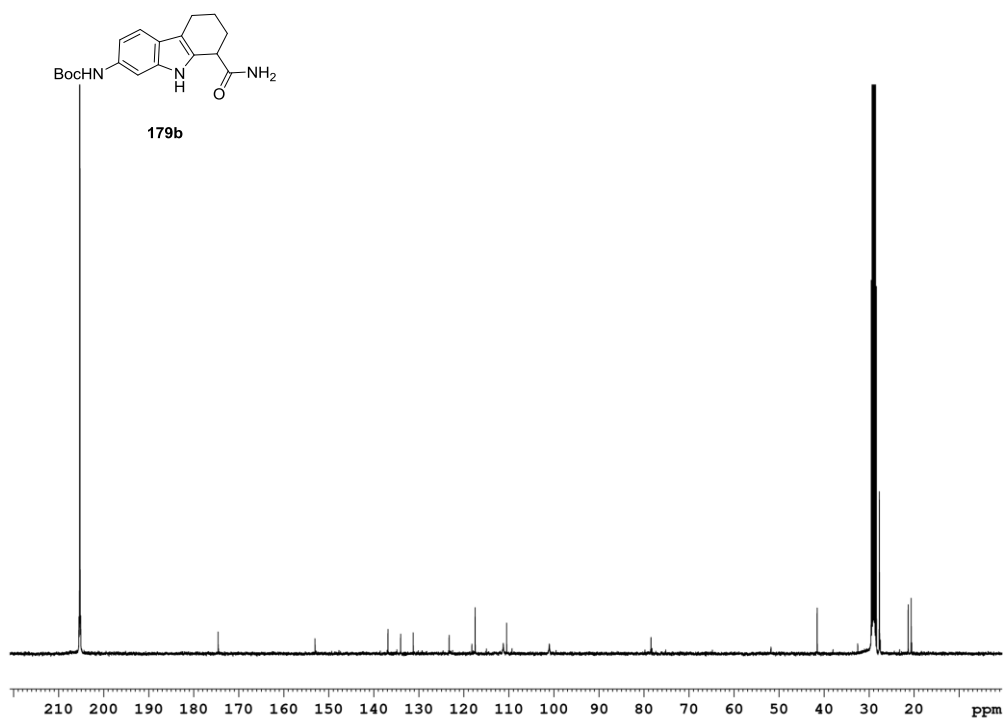


Abbildung 11.123: ^{13}C -NMR-Spektrum des Carboxamids **179b** (101 MHz, Aceton- d_6).

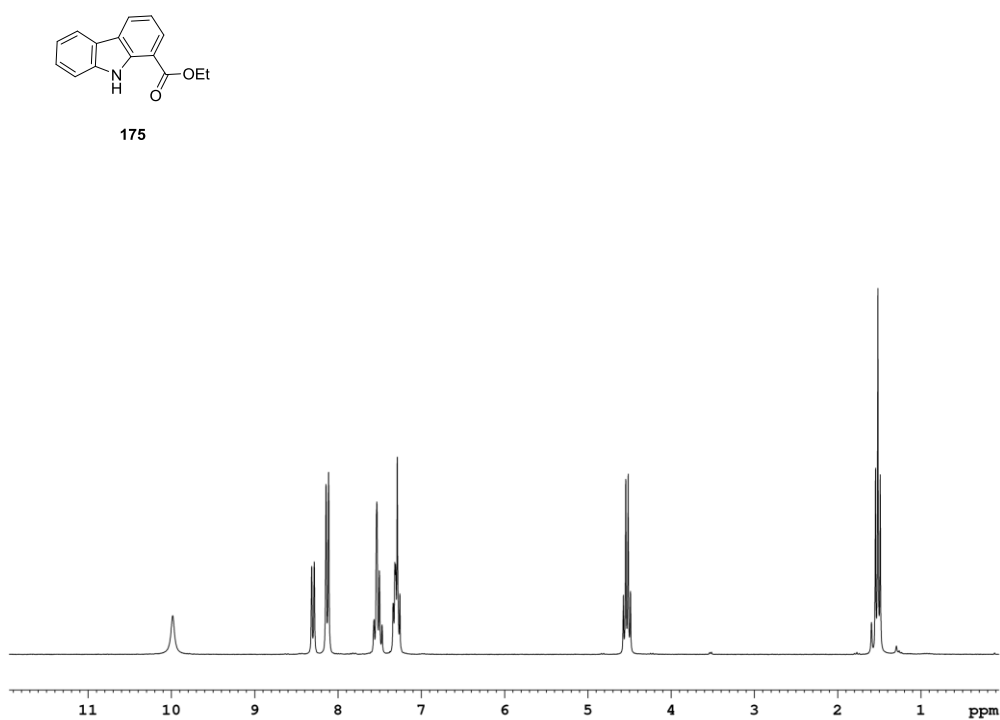


Abbildung 11.124: ^1H -NMR-Spektrum des Carbazols **181** (250 MHz, DMSO- d_6).

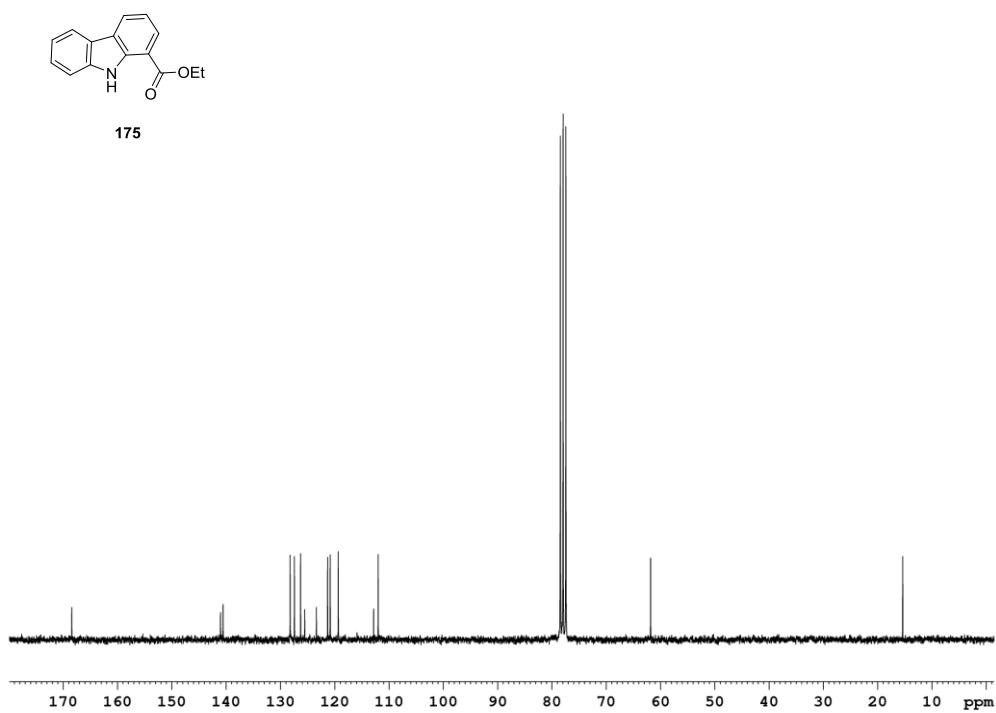


Abbildung 11.125: ^{13}C -NMR-Spektrum des Carbazols **181** (63 MHz, DMSO- d_6).

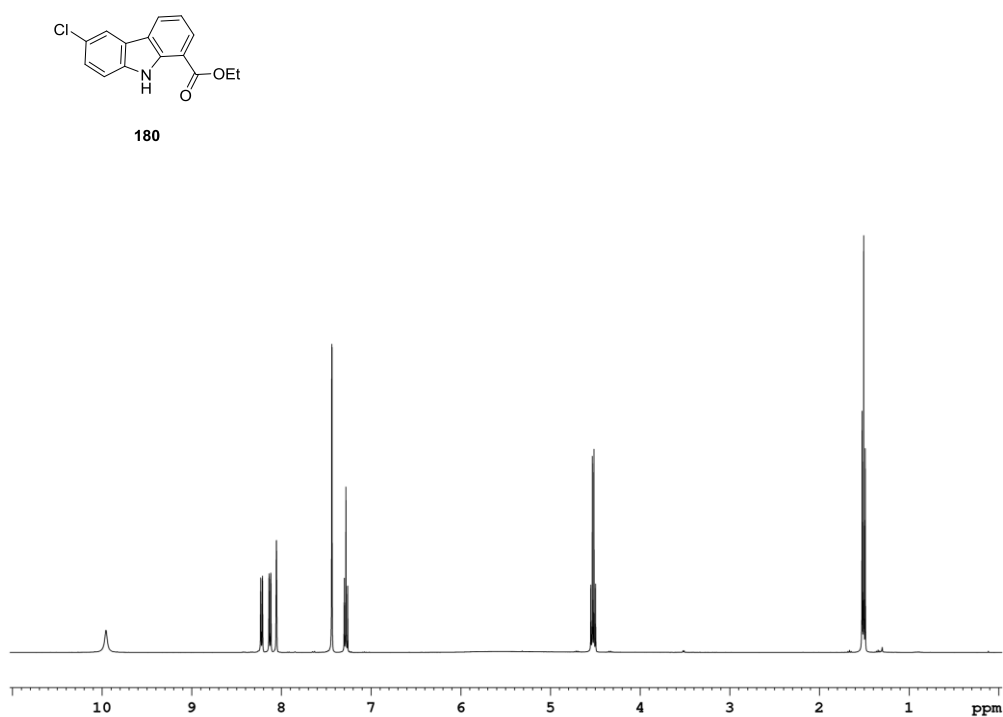


Abbildung 11.126: ^1H -NMR-Spektrum des Carbazols **180** (400 MHz, CDCl_3).

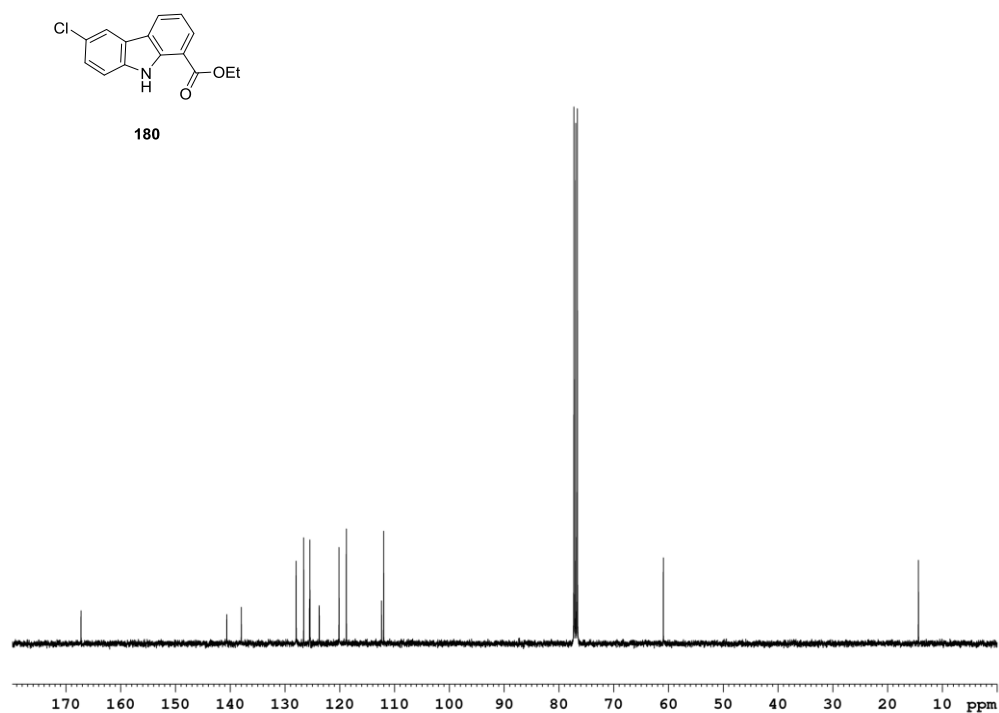


Abbildung 11.127: ^{13}C -NMR-Spektrum des Carbazols **180** (101 MHz, CDCl_3).

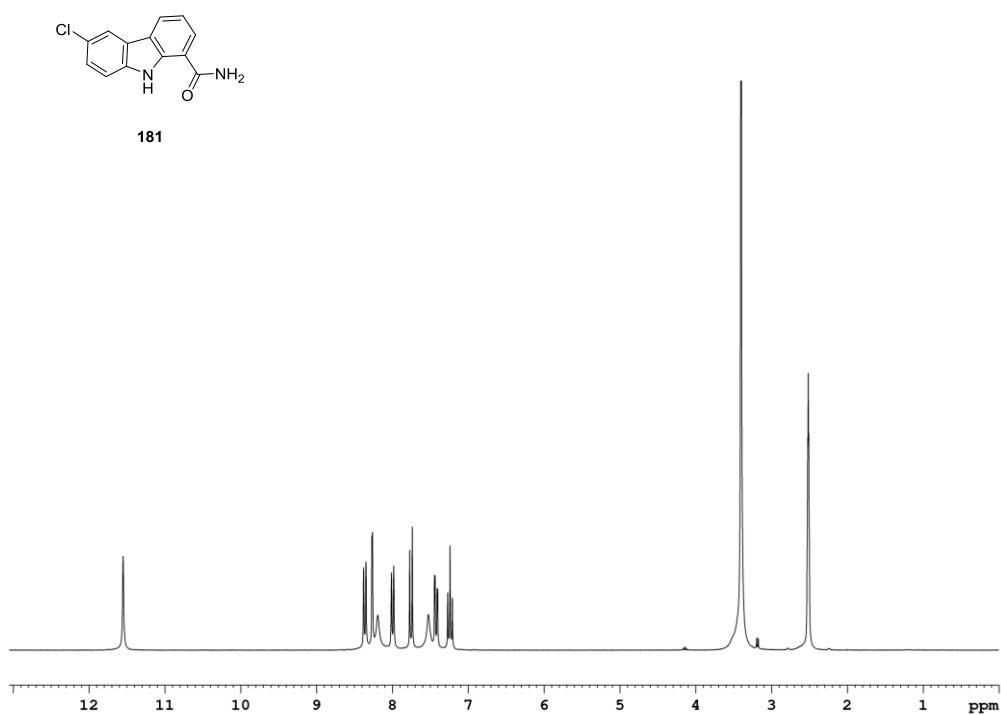


Abbildung 11.128: ¹H-NMR-Spektrum des Carboxamids **181** (250 MHz, DMSO-d₆).

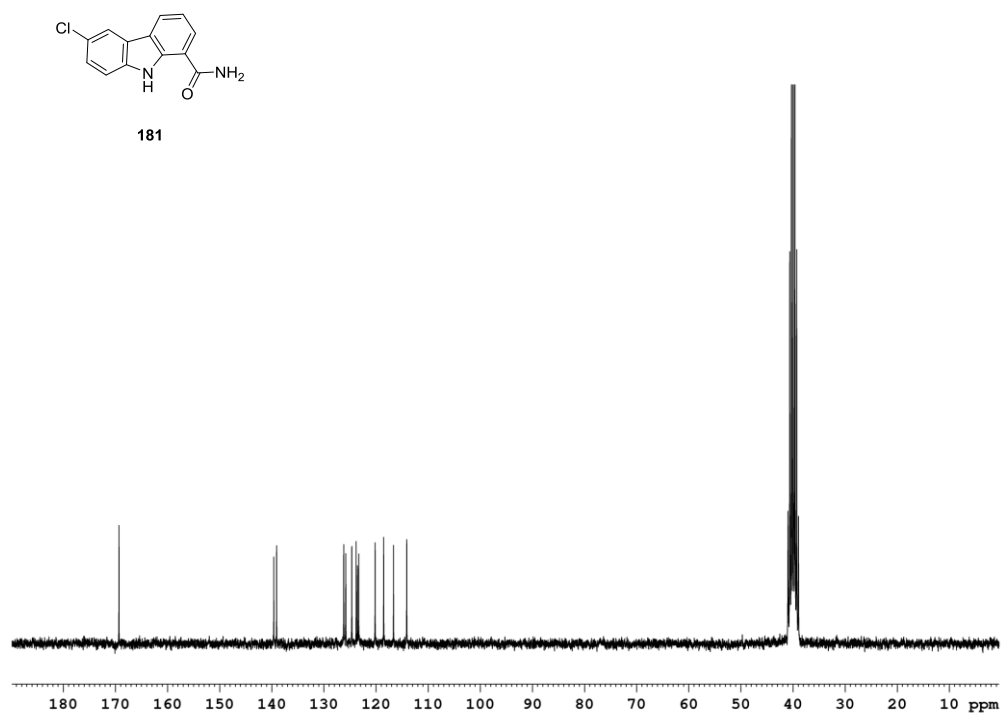


Abbildung 11.129: ¹³C-NMR-Spektrum des Carboxamids **181** (63 MHz, DMSO-d₆).

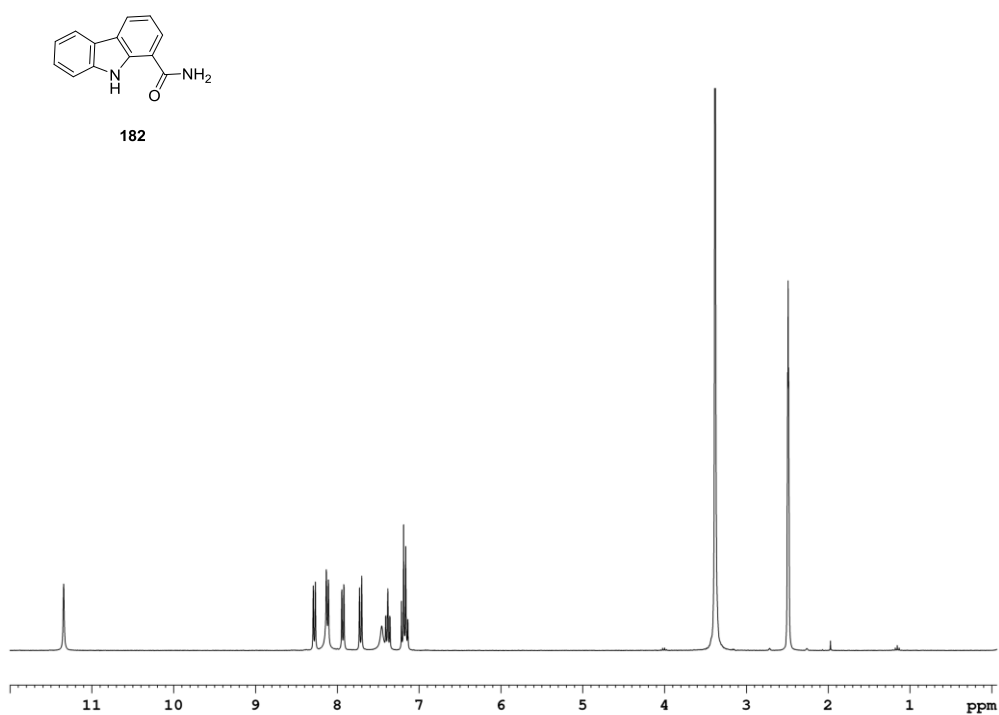


Abbildung 11.130: ^1H -NMR-Spektrum des Carboxamids **182** (300 MHz, DMSO- d_6).

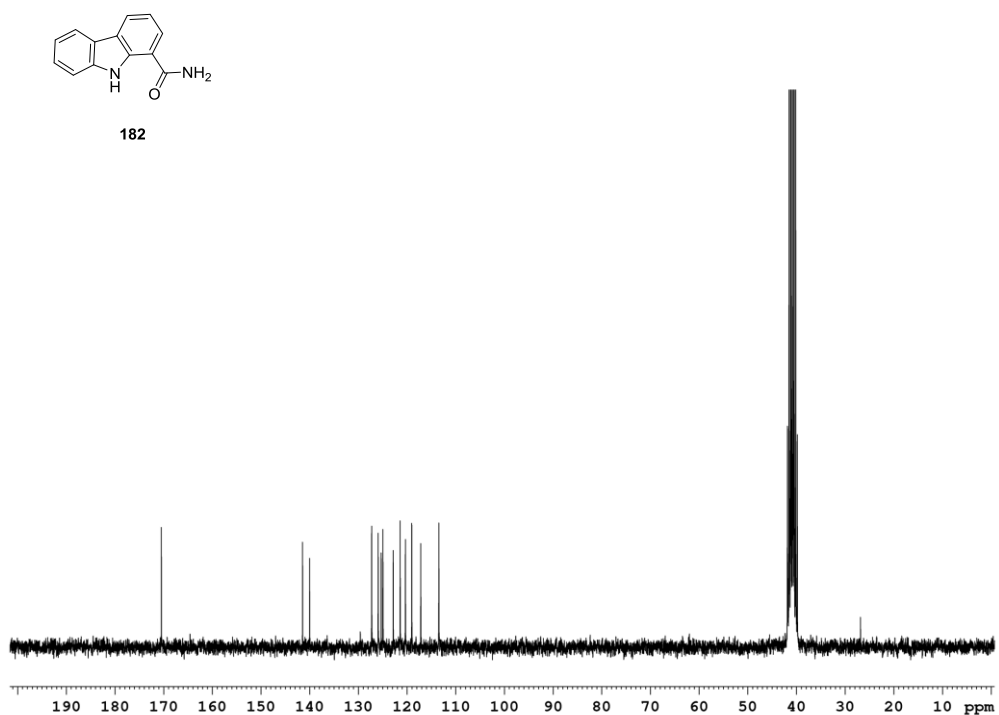


Abbildung 11.131: ^{13}C -NMR-Spektrum des Carboxamids **182** (63 MHz, DMSO- d_6).

Ich danke Prof. H.-D. Arndt für die Möglichkeit die vorliegende Dissertation in seiner Arbeitsgruppe anfertigen zu können. Auch danke ich Ihm für die verschiedenen interessanten und anspruchsvollen Forschungsthemen, die fachlichen Diskussionen und die daraus erhaltenen Ideen zu neuen Lösungsansätzen. Des Weiteren danke ich Prof. H.-D. Arndt für die Übernahme des Erstgutachtens.

Prof. R. Beckert danke ich für die freundliche Bereitschaft der Übernahme des Zweitgutachtens.

Allen Mitgliedern, technischen Mitarbeitern und anderen Angestellten der Arbeitsgruppen Arndt und Vilotijević danke ich für die vielen interessanten Diskussionen zu Syntheseproblemen und Sonstigem sowie der positiven, menschlichen, offenen und angenehmen Arbeitsatmosphäre.

Bei Prof. Cyril Ronco möchte ich mich herzlich für die Einarbeitung in das Urukthapelstatin A-Projekt, die vielen interessanten Diskussionen und die angenehme Arbeitsatmosphäre während der Zusammenarbeit und darüber hinaus bedanken.

Ich bedanke mich bei PD Dr. Christoph Enzensperger für die vielen Ideen, Inspirationen und Diskussionen zum Sirtuin-Projekt sowie der Korrektur des SAR-Teiles der hier hergestellten Sirtuin-Modulatoren. Dr. Claudia Rößler danke ich für das Durchlesen und die Korrektur der Einleitung zum Kapitel über Sirtuine.

Bei Heidi Zdon bedanke ich mich sehr für Ihre unermüdliche Hilfe bei der Synthese und Bereitstellung von Ausgangsmaterialien in größerem Maßstab.

Dr. P. Bellstedt, Dr. W. Günther und G. Sentis danke ich sehr für die Hilfe bei Fragen und Problemen zu NMR-Untersuchungen. Für die Messungen der vielen hochaufgelösten Massen bedanke ich mich bei Dr. Lydia Seyfarth und Chantsalmaa Berthold sowie bei S. Köhn und B. Lentvogt für die durchgeführten Elementaranalysen.

Ein besonderer Dank gilt auch den vielen Studenten, die mich bei den unterschiedlichen Projekten und Nebenprojekten unterstützt haben: Tanja Božić, Nora Engel, Diana Kalden, Philipp Balzer, Friedemann Börner, Marino Brensing, Ansgar Oberheide, Fabian Seifert und Oliver Zumann. Ansgar Oberheide danke ich zusätzlich für die Weiterführung des Urukthapelstatin A Projektes in seiner Masterarbeit und den daraus erhaltenen Daten.

Dr. Patrick Loos, Angelika Güther, Sabri Chiha und Richard Nohl danke ich für die angenehme, lockere Laboratmosphäre und die vielen interessanten Gespräche. Für eine ebensolche Atomsphäre während des Verfassens dieser Arbeit danke ich Sabri Chiha und Philip Wojtas.

Ebenfalls möchte ich meinen Freunden aus Schul- und Unizeiten für die schönen Momente und anregenden Gespräche und den Austausch danken.

Schließlich danke ich meinen Eltern und meiner Schwester für die Unterstützung und die schönen Momente während der Dissertation und in der Zeit davor.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen angefertigt habe.

Jena, den

.....

Sebastian Schwenk